

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

BEITRÄGE
ZUR CHEMOTAXONOMIE
DER GATTUNG VITEX

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

1964

vorgelegt von

Klaus Dietrich Schaaf

aus Berlin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550805_0022

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

B E I T R Ä G E
Z U R C H E M O T A X O N O M I E
D E R G A T T U N G V I T E X

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Dietrich Schaaf
aus Berlin



Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juni 1964

Tag der Promotion: 29. JULI 1964

Meinem Vater zum Gedenken

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin und in den Laboratorien der Apotheke des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Hänsel, Direktor des Institutes für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, möchte ich sowohl für die Anregung zu diesem Thema als auch dafür danken, daß er mir durch Hinweise und Ratschläge die Durchführung dieser Arbeit neben meiner Tätigkeit als Krankenhausapotheker ermöglichte.

Außerdem bin ich Herrn Oberapotheker Dr. Wittenhagen, Leiter der Apotheke des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses sehr zu Dank verpflichtet, da ich einen Teil meiner Arbeiten in den Laboratorien der Krankenhausapothek e ausführen durfte.

Ferner danke ich Herrn Dr. E. Winde, Fa. Boehringer, Ingelheim, ehemaliger wissenschaftlicher Assistent am Institut für Pharmakognosie, für seine gründliche Einführung in die Methodik der Arbeit, sowie den Herren H. Rimpler und Ch. Leuckert für ihre Ratschläge und wissenschaftlichen Diskussionen.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung und Problemstellung	4
Botanik der Gattung Vitex	7
Phytochemie der Gattung Vitex (Literaturübersicht)	12
<u>A</u> T h e o r e t i s c h e r T e i l	17
I. Die Pseudoindikane des Holzes von Vitex lucens T. KIRK	18
1) Isolierung zweier Glycoside ; Identifizierung als Agnusid u. Aucubin	19
2) Zur Konstitution des Agnusids	20
II. Die Flavonoide der Blätter von Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE	22
1)Isolierung der Flavonoide F ₁ und F ₂	22
2)Charakterisierung und Identifizierung	23
a)d.Verbindg.F ₁ als Luteolin-7-glucosid	
b)der Verbindung F ₂ als Orientin	
3)Papierchromat.Identifizierung des Flavonoids F ₃ als Homoorientin	26
III. Ein bisher unbekanntes Triterpen a.d.Blättern v. Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE	27
Isolierung und Charakterisierung	27
IV. Untersuchung d.Holzes v.Vitex agnus castus L. u.Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE auf Pseudoindikane und Flavonoide	31
1) Pseudoindikane	31
2) Flavonoide	31
a) Prüfung d.Vorkommens bei Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE	31

	Seite
b) Nachweis u. Charakterisierung zweier Verbindg. a. <i>Vitex agnus castus</i> L.	32
V. Die ätherischen Öle bei <i>Vitex agnus castus</i> L. und <i>Vitex megapotamica</i> (SPRENG.) MOLDENKE	36
VI. Diskussion	38
VII. Zusammenfassung	41
<u>B</u> E x p e r i m e n t e l l e r T e i l	43
Allgemeines	44
I. Die Pseudoindikane des Holzes von <i>Vitex lucens</i> T. KIRK	45
1) Vorproben	45
2) Isolierung d. Pseudoindikane P_1 und P_2	46
3) Identifizierung von P_1 als Agnusid und von P_2 als Aucubin	48
II. Die Flavonoide der Blätter von <i>Vitex</i> <i>megapotamica</i> (SPRENG.) MOLDENKE	51
1) Isolierung der Flavonoide F_1 und F_2	51
2) Charakterisierung und Identifizierung	52
Farbreaktionen	52
UV-spektrophotometrische Untersuchungen	53
Alkalispaltung	53
Verhalten gegenüber Säuren	54
Jodwasserstoffreduktion	56
Papierchromatographische Vergleiche	57
3) Papierchromat. Identifizierung des Flavonoids F_3 als Homoorientin	58
III. Ein bisher unbekanntes Triterpen d. d. Blättern v. <i>Vitex megapotamica</i> (SPRENG.) MOLDENKE	59
1) Isolierung	59

	Seite
2) Charakterisierung	59
Löslichkeit	59
Bestimmung der optischen Aktivität	59
Elementaranalyse	59
Bestimmung des aktiven Wasserstoffs	60
Molekulargewichtsbestimmung	60
Farbreaktionen	60
Dünnschichtchromatographie	61
UV-spektrophotometrische Untersuchung	62
Acetylierung	62
IV. Die Flavonoide des Holzes von <i>Vitex agnus castus</i> L.	64
1) Papierchromatographische Trennung und Anreicherung	64
2) Säurehydrolyse	65
3) UV-spektrophotometrische Untersuchungen	66
V. Die ätherischen Öle bei <i>Vitex agnus castus</i> L. und <i>Vitex megapotamica</i> (SPRENG.)MOLDENKE	67
1) Wasserdampfdestillation d. Blätter von <i>Vitex megapotamica</i> (SPRENG.)MOLDENKE	67
2) Elektive Anfärbung und Auszählung der Drüsenhaare bei <i>Vitex agnus castus</i> L. und <i>Vitex megapotamica</i> (SPRENG.)MOLDENKE	67
Literaturverzeichnis	69
Lebenslauf	73

Einleitung und Problemstellung.

Die pflanzenchemischen Untersuchungen der letzten 200 Jahre haben zur Auffindung einer beachtlichen Zahl von sekundären Pflanzenstoffen in kaum zu überblickender Mannigfaltigkeit geführt. Um in dieser Fülle ein Ordnungsmerkmal zu erkennen, kann man von verschiedenen Einteilungsprinzipien ausgehen. Es gibt grundsätzlich drei Möglichkeiten, Pflanzenstoffe zu ordnen.

Die kausal-biochemische Betrachtungsweise glaubt ein Verständnis für das Vorkommen bestimmter sekundärer Pflanzenstoffe zu haben, wenn deren Weg der Biosynthese bekannt ist. Dabei wird grundsätzlich die Frage ausgeschlossen, warum sich manche Pflanzen in der Ausgestaltung sekundärer Inhaltsstoffe ähnlicher sind als andere.

Die chemotaxonomische Betrachtungsweise erklärt die Ähnlichkeit in der Ausbildung bestimmter sekundärer Pflanzenstoffe durch die phylogenetische Verwandtschaft der Gewächse. Obwohl zweifelsohne gewisse Korrelationen zwischen Stellung einer Pflanze im natürlichen System und deren Chemismus bestehen, konnten doch strengere Gesetzmäßigkeiten nicht gefunden werden, insbesondere keine Gesetzmäßigkeiten, die Voraussagen über das Vorkommen gewisser Stoffgruppen in bestimmten Taxa erlauben würden.

Drittens nun erscheint es denkbar, die Frage nach dem Vorkommen bestimmter Pflanzenstoffe in einzelnen Pflanzenarten von einem vergleichend-physiologischen Standpunkt aus zu betrachten. Arten, die sich im Verlauf der Evolution an bestimmte äußere Lebensbedingungen anpassen mußten, haben wohl auch die dafür geeigneten Stoffwechselmechanismen entwickelt. Diese sind zwar nur in Ausnahmefällen einer direkten Untersuchung zugänglich.

Da aber Struktur und Funktion einander irgendwie zugeordnet sind, müssen sich u.U. ganz bestimmte morphologische Ausbildungen als Ausdruck physiologisch-chemischer Differenzierungen auffassen lassen. Von diesem besonderen Blickpunkt aus wurden Milchsaftschläuche, innere und äußere Drüsen und ähnliche morphologische Kleinstrukturen in Beziehung zu chemischen Merkmalen der Pflanze studiert.(1)(3)

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit den sekundären Inhaltsstoffen dreier Vitexarten: Es wurde das Vorkommen und die chemische Endausgestaltung von drei Stoffgruppen (Pseudoindikanen, Flavonoiden und Terpenoiden) bei *Vitex agnus castus* L., *Vitex megapotamica*(SPRENG.)MOLDENKE und *Vitex lucens* T.KIRK untersucht. Alle genannten Arten gehören der Subgenus *Euvitex* an. Es sollte geprüft werden, ob sich die enge taxonomische Verwandtschaft auch im Chemismus ausprägt, d.h. ob alle drei Arten in den uns taxonomisch wesentlich erscheinenden chemischen Merkmalen übereinstimmen.

Nun weisen aber die Teilblättchen von *Vitex agnus castus* und *Vitex megapotamica* - trotz Einordnung der beiden Arten in die gleiche Subgenus - recht wesentliche Unterschiede auf. Bei *V.agnus castus* sind sie ziemlich klein, fest, nach dem Trocknen braunschwarz und riechen intensiv. Die Blättchen von *V.megapotamica* dagegen sind wesentlich größer, pergamentartig, nach dem Trocknen hellgrün und selbst nach dem Verreiben völlig geruchlos. Die Unterseite der Blätter von *V.agnus castus* ist im Gegensatz zu *V.megapotamica* stark behaart und - wie eine mikroskopische Prüfung ergibt - mit zahlreichen Drüsenhaaren besetzt, die bei *V.megapotamica* äußerst spärlich auftreten.

Hier liegt mindestens e i n morphologischer Unterschied vor (Zahl der Drüsenhaare), der von vornherein mit einem chemischen Merkmal (Gehalt an ätherischem Öl) gekoppelt ist. Wir stellten uns deshalb die Frage, ob sich an diese Stoffwechseleigentümlichkeit, die für die systematische

Zuordnung von untergeordneter Bedeutung ist, weitere Unterschiede im Sekundärstoffwechsel knüpfen. HÄNSEL(3) konnte Anhaltspunkte dafür beibringen, daß Pflanzen mit Drüsen, die ätherisches Öl bilden, dazu tendieren, sekundäre Pflanzenstoffe mit lipophilen Gruppen zu beladen, um diese in den Exkretträumen ausscheiden zu können.

Das Grundproblem der Arbeit in eine Alternativform gebracht ist daher, zu untersuchen, ob sich in den chemischen Merkmalen mehr die enge taxonomische Verwandtschaft oder die Unterschiede im Habitus der vegetativen Organe, hauptsächlich der Blätter, widerspiegeln. Es liegt dabei nicht im Rahmen dieser Arbeit, irgendwelche kausalen Zusammenhänge zwischen strukturellen und chemischen Merkmalen zu klären, sie hat vielmehr rein deskriptiven Charakter.

Botanik und Verbreitung der Gattung Vitex.

Die Gattung Vitex - Tribus Viticeae - wird nach BRIQUET(7) der Unterfamilie Viticoideae in der Familie der Verbenaceae zugeordnet. Von dieser Gattung sind bis heute etwa 380 Arten und Unterarten bekannt(8), die fast ausschließlich in den Tropen und Subtropen der östlichen und westlichen Hemisphäre beheimatet sind. Nur einige wenige findet man in den gemäßigten Zonen Europas und Asiens.

Der Gattungsname leitet sich ab von dem lateinischen Wort "vicio" (binden) und deutet darauf hin, daß die Typusart (*Vitex agnus castus* L.) auf Grund ihrer biegsamen schlanken Sprosse oft zu Flechtarbeiten benutzt wurde. Er wurde zum ersten Mal von Hieronymus Bock im Jahre 1552 in Zusammenhang mit *Vitex agnus castus* erwähnt.(8)

Wie die übrigen Verbenaceen haben die Vitex-Arten größtenteils gegenständige Blätter, die meist aus drei bis fünf oder sieben Blättchen zusammengesetzt sind. Die Blüten sind zygomorph und zu zymösen Blütenständen vereinigt. Das Androeceum besteht aus vier Stamina. Das Pistill wird aus zwei zweifächerigen Karpellen gebildet und entwickelt sich zu einer Steinfrucht, die fettes und ätherisches Öl enthält. Die Früchte sind teilweise essbar. Die Samen weisen kein Nährgewebe auf.

Die Gattung umfaßt größtenteils Bäume und Sträucher, seltener Kletterpflanzen. Die Bäume erreichen des öfteren beachtliche Ausmaße und werden zum Teil als Lieferanten guter Nutzhölzer geschätzt.

Einen allgemeinen Überblick der Gattung Vitex gibt BRIQUET(7) in einer systematischen Zusammenstellung: Er gliedert die Gattung Vitex in vier Sektionen auf, von denen er die erste und umfangreichste, die Sectio *Agnus castus* (ENDL.)BRIQ. nochmals unterteilt.

Nach den Blütenständen unterscheidet er innerhalb dieser 1. Sectio die beiden großen Gruppen der Terminales und Axillares, sowie die kleinere - den Rahmen dieser Arbeit nicht berührende - Gruppe der Glomerulosae.

Der bekannteste Vertreter der "Terminales BRIQ." ist *Vitex agnus castus* L. Die Arten dieses Taxons finden sich vorwiegend in Indien, China und Malesien.

Die sehr artenreiche Gruppe der "Axillares BRIQ." ist besonders zahlreich in Zentral- und Südamerika sowie Afrika anzutreffen.

In einer neueren Arbeit gliedert PIEPER(10) die Gattung *Vitex* in fünf Subgenera. Die zweite Subgenus - *Euvitex* PIEPER - entspricht weitgehend der Sectio *Agnus castus*(ENDL.)BRIQ., Terminales, Axillares und Glomerulosae werden dabei in den Rang von Sectionen erhoben.

Die im Rahmen meiner Arbeit berücksichtigten *Vitex*-arten sind *Vitex agnus castus* L., *Vitex lucens* T.KIRK (*V. littoralis* A.CUNN. 1838 non *V. littoralis* DECNE 1834) und *Vitex megapotamica*(SPRENG.)MOLDENKE (*V. montevidensis* CHAM.)

Vitex agnus castus(9) ist auf der Krim, an den Küsten des Mittelmeeres und in den nördlichen Randgebieten des afrikanischen Kontinents beheimatet. Die strauchartige manchmal auch baumartige Pflanze liebt sandigen Boden und ist an Wegrändern und Flußufern, in Pinienwäldern und Dickichten anzutreffen.

Diese Art ist schon sehr früh kultiviert worden; teils als Zierpflanze ihrer blaßblauen oder blauvioletten Blüten wegen, teils, um ihre biegsamen schlanken Sprosse zu Flechtarbeiten zu benutzen. Durch diesen Umstand ist ihre Verbreitung wesentlich gefördert worden, so daß diese Art heute in allen warmen Zonen Asiens, Afrikas und Amerikas zu finden ist. Von Homer (900 v.Chr.) besungen

und von Theophrast (300 v.Chr.) beschrieben, spielte diese Pflanze bei kultischen Handlungen der Griechen und Römer als Sinnbild der Keuschheit eine Rolle.

Ihre kugeligen schwarzbraunen, im Querschnitt etwa 3 mm großen, aromatisch riechenden Früchte wurden im Mittelalter wegen ihres pfefferartigen Geschmacks als Gewürz (Mönchspfeffer) verwendet.

Vitex lucens(11), ein mittelgroßer Baum, ist in den Mischwäldern der Nordinsel von Neuseeland verbreitet. Er blüht rosa, seine Blütezeit ist Januar bis März und August bis Dezember. Das sehr harte Holz dieses Baumes ist als Bauholz sehr geschätzt und unter dem Namen Puriri oder neuseeländisches Teak bekannt. Die Bäume wie auch das bereits gefällte Holz werden leicht von den Larven der Puririmotte (*Hespialus virescens*), etwa bleistift-dicken 3-4 cm langen Würmern befallen, die Gänge durch das Holz bohren. Auch die uns übersandten Proben waren von diesen Larven befallen.

Vitex megapotamica(12) ist ebenfalls ein mittelgroßer Baum. Seine Heimat ist Südbrasilien, Paraguay sowie der nördliche Teil Argentinien. Er wächst an den Urwaldrändern, in Dickichten und Sümpfen, an Flußufern, Böschungen und Wegrändern bis in Höhen von tausend Metern über den Meeresspiegel ansteigend. In der Blütezeit von September bis Februar soll er durch seine blauen Blüten einen prächtigen Anblick bieten. Die Reifezeit erstreckt sich von November bis März. Seine Früchte haben das Aussehen reifer Oliven und sind essbar. Die Einheimischen nennen sie "copiuba" oder "taruma" (echter Taruman). Heute wird *Vitex megapotamica* teilweise als schattenspendender Baum in den aufstrebenden Großstädten Südamerikas angepflanzt. Fachleute vertreten die Ansicht, daß es sich lohnen würde, diese Art zu kultivieren und durch Zucht größere und süßere Früchte zu produzieren.

Von dieser Art soll eine nähere Beschreibung nach

MOLDENKE(12) folgen, da hier genaue chemische Untersuchungen noch nicht erfolgt sind: +)

Stamm bis ein Meter Durchmesser; Borke unregelmäßig schuppig; junge Zweige behaart.

Blätter gegenständig, aus drei bis sieben Teilblättchen zusammengesetzt, meist aus fünf;

Blattstiele schmal, 1-8 cm lang, dicht behaart, an der Basis schwach verbreitert; Blättchen unsymmetrisch gestielt;

Blättchenspreite variierend von elliptisch oder elliptisch-lanzettlich bis umgekehrt eiförmig bzw. umgekehrt lanzettlich, 3-14 cm lang und 1,3-6 cm breit, mit glattem Rand oder über der Mitte schwach gezähnt; oben unbehaart, unten sehr schwach behaart besonders auf der Mittelrippe und größeren Nerven, in den Achseln manchmal gebärtet, verkahlend. Mittelrippe schmal, oben eingedrückt, unten hervorstehend; Seitennerve schmal, meist nahe beieinander, auf der Unterseite hervorstehend, aufsteigend, nicht sehr gebogen (außer an den Rändern, wo sie bogig vereint werden).

Blütenstand axillär, zymös, ein- bis mehrfach gegabelt; Hochblätter oft vorhanden; Blüten duftend; Kelch grün, glockig, 3-4mm lang, 2,5-4 mm breit, kurz behaart; Rand mit fünf Zähnen, die oft zurückgebogen sind; Krone tellerförmig, Farbe von schwach rosa bis tief violett; Farbe der Kronröhre meist weiß mit einem lila Schimmer; Kronröhre an der Außenseite über dem Kelch dicht behaart, innen unbehaart, mit Ausnahme des Schlunds; Rand fünflappig, die vier ungleichen oberen und seitlichen Lappen im allgemeinen weiß, oval zugespitzt, 4-8 mm lang, 3-7 mm breit;

+)

Herrn Prof. MOLDENKE, New York, der uns freundlicherweise bestätigte, daß die vorliegende Droge von der Art *Vitex megapotamica* (SPRENG.) MOLDENKE stammt, möchten wir an dieser Stelle herzlichst danken.

der untere Lappen in eine fächerförmige Lippe bis 13 mm Länge und 10 mm Breite umgewandelt, abgerundet und an der Spitze gekerbt, an den Rändern gekräuselt, an der verengten Basis behaart. Vier Staubblätter, didynamisch, Filamente fadenförmig, etwa 9-10 mm lang, an der Basis behaart.

Pistill unbehaart, Griffel etwa 10 mm lang, Narbe zweilappig. Ovar kugelförmig von etwa 3-5 mm Durchmesser. Steinfrucht schwarz oder rotschwarz, kugelig bis eiförmig, zur Reifezeit etwa 2,5 cm lang und 1,7 cm breit, unbehaart, eßbar.

Phytochemie der Gattung Vitex (Literaturübersicht)

Obwohl in den tropischen Ländern die Vitexarten als Lieferanten einer beachtlichen Zahl heilkräftiger Drogen bekannt sind (13) und sich seit Jahrhunderten einer Wertschätzung der einheimischen Bevölkerung erfreuen, ist diese Gattung bisher nur wenig untersucht worden. Teilweise sind diese Untersuchungen sehr oberflächlich ausgeführt worden, so daß in der Literatur nur spärliche Angaben über das Vorkommen verschiedener Pflanzenstoffe zu finden sind. (13-16)

So berichtet z.B.F.W.FREISE(16) 1936 von einer früheren Untersuchung, nach der in *Vitex megapotamica* als Hauptinhaltsstoffe 0,25-0,35% eines ätherischen Öles vom charakteristischen Geruch frischen Roggenbrot, Spuren bis 0,05% eines berauschend wirkenden Alkaloides sowie reichliche Mengen von Methylsalicylat und Kaliumnitrat vorhanden sein sollen, die jedoch zu unseren Untersuchungen in Widerspruch steht. Aller Wahrscheinlichkeit nach lag hier eine Verwechslung von Drogen vor.

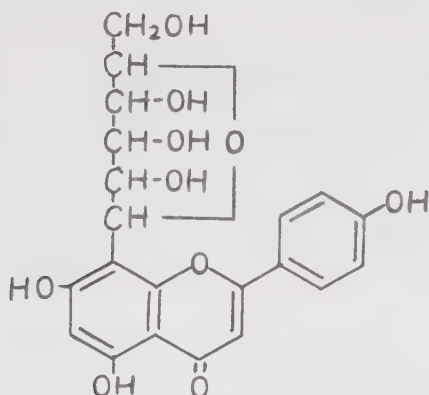
1) Alkaloide.

In der älteren Literatur werden bei Vitexarten oft Alkaloide als Inhaltsstoffe angegeben. (14,15). Leider sind dabei keine näheren Angaben über methodische Details angeführt. Neuerdings wollen BASU und SINGH(17), zwei indische Autoren, aus *Vitex negundo* ein Alkaloid Nishindin isoliert haben. Offensichtlich konnten die Ergebnisse jedoch nicht mehr reproduziert werden. +)

+) Persönliche Mitteilung Dr.C.W.Rees (London) v.15.1.63

2) Flavonoide.

Im Jahre 1898 isolierte PERKIN(18) aus dem Holz von *Vitex lucens* ein Flavonoid, das er Vitexin nannte. Nach jahrzehntelangen vergeblichen Versuchen die Struktur aufzuklären, erkannten 1957 EVANS und Mitarbeiter (19) Vitexin als ein 8-Glycosylapigenin. Nach RAO und VENKATESWARLU(20), die Vitexin inzwischen auch aus *Vitex peduncularis* isolieren konnten(21), handelt es sich um ein 8-(1,5-pyranoglycosyl)-apigenin:



Mit dieser Verbindung ist in der Flavonoidreihe erstmalig ein neuer Typ beschrieben worden, von dem inzwischen weitere Vertreter gefunden werden konnten(22-25). Charakteristisch für diese C-glykoside scheint zu sein, daß nach Säurehydrolyse die Kohlehydratkomponente nicht abgespalten wird, sondern eine bis zu einem Gleichgewicht fortschreitende "Isomerisierung" erfolgt. SEIKEL und GEISSMANN(26) halten diese Umsetzung für eine reversible Hydratisierung im Zuckeranteil des Moleküls, während neuerdings KOEPPEN(27) Anhaltspunkte für eine Epimerisierung gefunden hat.

SEIKEL und Mitarbeiter(28) berichten 1959 über den papierchromatographischen Nachweis von Vitexin-4'-rhamnosid im Holz von *V. lucens*.

Aus *Vitex agnus castus* konnte SIRAIT(6) im Jahre

1961 drei Flavonoide isolieren, von denen er eines als Luteolin-7-glucosid identifizieren konnte. Das zweite Flavonoid ist inzwischen von HÄNSEL und RIMPLER(5) als Homoorientin identifiziert worden. Die Struktur des dritten Flavonoids, eines Aglucons, konnte von BELIC und Mitarbeitern(29) aufgeklärt werden. Dabei handelt es sich um ein 5,3'-Dihydroxy-3,6,7,4'-tetramethoxyflavon. Dieses "Casticin" genannte Flavonoid ist bisher außerhalb der Gattung Vitex nicht gefunden worden.

3) Pseudoindikane.

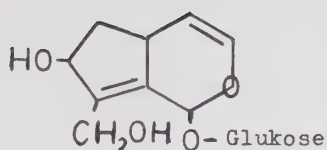
Bei phytochemisch-analytischen Reihenuntersuchungen über das Vorkommen von Pflanzenstoffen beobachtete GRESHOFF(30) im Jahre 1898, daß einige Vitexarten Pseudoindikane führen; er wies sie nach in Vitex altissima, V.confassus, V.leucoxylon, V.Loureiri, V.negundo und V.trifolia.

Bisher konnten zwei definierte Pseudoindikane, Aucubin und sein p-Hydroxybenzoesäureester Agnusid, aus Vitexarten isoliert werden.(4)

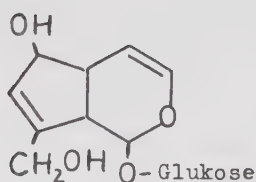
a) Aucubin:

Aucubin wurde erstmalig von E.BOURQUELOT und H.HERISSEY(31) im Jahre 1902 aus Aucuba japonica THUNBG., einer Cornaceae, isoliert. Die Autoren erkannten bereits, daß es sich um ein Glycosid handelt, das aus Glukose und einem sehr labilen Aglucon, dem Aucubigenin, besteht. Die endgültige Strukturauflklärung gelang erst in den letzten Jahren durch SCHMID und Mitarbeiter(32) sowie UDA und Mitarbeiter(33), die unabhängig voneinander folgende Formeln vorschlugen:

Aucubin



nach H.Schmid



nach UDA

GRIMSHAW(34) konnte 1960 die Struktur nach UDA beweisen.

b) Agnusid:

GHOSE und KRISHNA(35) isolierten 1936 aus *Vitex negundo* eine Verbindung, die beim Kochen mit Säuren in p-Hydroxybenzoesäure und einen sehr labilen Anteil, der leicht polymerisierte, aufspaltete. Der Nachweis von Glukose ließ die Autoren auf die glykosidische Natur dieser Verbindung schließen.

Im Jahre 1960 berichteten WINDE und HÄNSEL(4) über die Isolierung des Pseudoindikans Agnusid neben Aucubin aus den Blättern von *Vitex agnus castus*. Da bei der alkalischen Verseifung dieser Verbindung p-Hydroxybenzoesäure und Aucubin erhalten wurden, erkannten sie Agnusid als den p-Hydroxybenzoesäureester des Aucubins. SIRAIT(6) konnte ein Jahr später die Identität des von CHOSE und KRISHNA(35) beschriebenen Glykosids mit Agnusid beweisen.

4) Ätherische Öle.

Verschiedene Vitexarten enthalten ätherische Öle. Genauere Angaben finden sich in der Literatur(36) über die Arten *Vitex agnus castus*, *V. trifolia* und *V. negundo*:

a) *Vitex agnus castus*:

Gewonnen durch Wasserdampfdestillation aus den Blättern 0,36 bzw. 0,48%; aus den Samen 0,74%. In dem Öl wurde nachgewiesen: Pinen, Sabinen (?), Cineol, Palmitinsäure, ein Chinon sowie ein Sesquiterpen und ein Sesquiterpenalkohol(37-39).

b) *Vitex trifolia*:

Durch Wasserdampfdestillation aus Blättern und Zweigen; keine Gehaltsangabe.

Es wurden nachgewiesen: Cineol, 1-a-Pinen, ein Diterpenalkohol, Camphen und Terpenylacetat(40-41).

c) *Vitex negundo*:

Aus den Blättern durch Wasserdampfdestillation;
Gehalt: 0,04 bis 0,07%. Im Öl wurden nachgewiesen:
Carbonylverbindungen 22,5%, Phenole 15%, Cineol 10%(42).

A T h e o r e t i s c h e r T e i l

I. Die Pseudoindikane des Holzes von

Vitex lucens T.KIRK.

Vitex lucens ist neben *Vitex agnus castus* die bisher am meisten untersuchte Pflanze der Gattung *Vitex*. In den zahlreichen Veröffentlichungen (18,28) ist jedoch niemals etwas über Pseudoindikane als Inhaltsstoffe berichtet worden. Ob dies nur auf Grund vergeblicher Bemühungen der Isolierung dieser sehr labilen Pflanzenstoffe geschah oder ob die Pflanze frei von Pseudoindikan ist, sollte untersucht werden. Für uns war dies insofern von Interesse, als es bisher nur gelungen war, Pseudoindikane in den zu den Terminalales gerechneten *Vitex*-arten nachzuweisen und daraus zu isolieren (30).

Wurde eine Probe des methanolischen Holzextraktes mit konzentrierter Essigsäure unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure sowie einer Spur Kupfersulfat eine Minute gekocht, so färbte sich die Lösung tiefblau. Diese zuerst von TRIM und HILL(43) beschriebene Reaktion ist für Pseudoindikane sehr charakteristisch. Nachdem durch diese Reaktion auf das Vorliegen von Pseudoindikan geschlossen werden konnte, war als nächstes zu prüfen, ob dieser Stoff evtl. verwandt oder identisch mit einem der aus *Vitex agnus castus* isolierten Pseudoindikane war.

Papierchromatographisch ließen sich zwei Flecke nachweisen (RF 0,70 und 0,40; System BEW 4:1:5), die auf das Vorhandensein von Pseudoindikan schließen ließen. In den RF-Werten stimmten sie in etwa mit den aus *Vitex agnus castus* isolierten Pseudoindikanen Agnusid und Aucubin(4) überein.

1) Isolierung zweier Glycoside;

Identifizierung als Agnusid und Aucubin.

Die Isolierung der Pseudoindikane wurde zunächst nach der von WINDE und HÄNSEL(4) beschriebenen Methode versucht:

Das frische Holzmehl wurde erschöpfend mit 80proz. Methanol extrahiert und nach Abdampfen des Alkohols ein großer Teil der Begleitstoffe aus der wäßrigen Lösung mit Bleiacetat gefällt und abzentrifugiert.

Der Nachteil einer Vorreinigung mit Bleiacetat ist darin zu sehen, daß die Pseudoindikane teilweise an den Niederschlag adsorbiert werden und sich dann nur sehr langwierig und mit großen Mengen Wasser wieder auswaschen lassen. Außerdem muß das überschüssige Bleiacetat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff gefällt werden. Dabei wird ein Teil der sehr säureempfindlichen Pseudoindikane bereits zerstört, ein anderer wiederum an den Bleisulfidniederschlag adsorbiert. Die dadurch bedingten Verluste fallen dann wenig ins Gewicht, wenn die Pseudoindikane im Pflanzenmaterial in größeren Mengen vorliegen. Fallen die Glycoside nur in geringen Mengen an, wie hier im Holz verschiedener Vitexarten, scheint diese Methode von vornherein nicht brauchbar. Es wurde deshalb von uns eine Methode der adsorptiven Filtration entwickelt, die die Bleiacetatfällung umging und überdies die Isolierung vereinfachte. Außerdem konnte - nach Modellversuchen - die Ausbeute um etwa 20% gesteigert werden. Das Wesentliche dieser Methode besteht darin, daß die störenden Begleitstoffe an Polyamid selektiv adsorbiert werden, während die Pseudoindikane hindurchwandern, vorausgesetzt, man verwendet Wasser oder nur geringe Methanolkonzentrationen (10-20proz.) als Elutionsmittel. Eine Zufallsbeobachtung

bei der Abtrennung der Flavonoide aus Pflanzenextrakten an Polyamid wurde von uns zu dieser Methode ausgebaut.

Das pseudoindikanhaltige Eluat wurde vorsichtig im Vakuum zur Trockne eingeengt. Aus dem Rückstand wurde mit Essigester ein Pseudoindikan (P_1) herausgelöst (Ausbeute 0,006%), das nach Umkristallisation bei 145-146° schmolz. Es erwies sich mit dem von WINDE und HÄNSEL(4) aus *Vitex agnus castus* isoliertem Agnusid als identisch. Die Identität des Pseudoindikans P_1 mit Agnusid konnte durch Mischschmelzpunkt und auf Grund der Übereinstimmung der IR-Spektren und UV-Spektren bestätigt werden.

Aus dem Rückstand wurde durch Extraktion mit Äthanol-Aceton(5:95) ein weiteres Pseudoindikan (P_2) herausgelöst (Ausbeute 0,009%), das als Aucubin identifiziert werden konnte. Die Identität des Pseudoindikans P_2 mit authentischem Aucubin wurde durch Mischschmelzpunkt, sowie auf Grund der Übereinstimmung der IR-Spektren bewiesen. Auch die Acetylderivate beider Verbindungen stimmten im Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt überein.

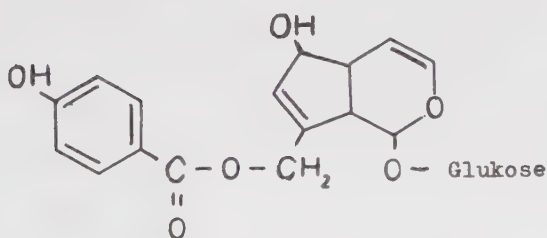
2) Zur Konstitution des Agnusids

Die bisherigen Untersuchungen über die Konstitution des Pseudoindikans Agnusid hatten die Frage offen gelassen, ob die p-Hydroxybenzoesäure mit der primären oder sekundären Hydroxygruppe des Aucubinmoleküls verknüpft ist. Die Klärung dieser Frage auf chemischem Wege war von uns schon mehrfach versucht worden, sie scheiterte jedoch jedesmal an der Zersetzlichkeit der Substanz. Wir wandten uns deshalb an Herrn Prof. Schmid, Zürich, mit der Bitte, die Stellung durch eine kernresonanzspektroskopische Untersuchung zu klären. Meine Aufgabe bestand darin, eine größere Substanzmenge von Agnusid zu isolieren und sie vollkommen

von organischen Lösungsmitteln zu befreien. Das geschah auf folgende Weise:

Die aus Essigester kristallisierte Substanz vom Schmelzpunkt 145-146° wurde mehrmals aus Wasser umgefällt. Dabei entstand eine weiße Gallerte, aus der die Flüssigkeit scharf abgesaugt wurde. Nach dem Trocknen resultierte eine mikrokristalline Substanz, die bei 154-155° schmolz.

Die Auswertung des NMR-Spektrums ⁺⁾ ergab, daß der aromatische Säurerest mit der primären Hydroxygruppe des Aglykonanteils verestert ist. Somit ist die Konstitution von Agnusid endgültig geklärt:



Agnusid

⁺⁾ Wir danken Herrn Prof. Schmid, Zürich, für die Aufnahme und Diskussion des Kernresonanzspektrums.

II. Die Flavonoide der Blätter von

Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE

Aus papierchromatographischen Voruntersuchungen ging hervor, daß die Blätter von *Vitex megapotamica* drei Flavonoide mit den RF-Werten 0,33 ($=F_1$), 0,50 ($=F_2$) und 0,49 ($=F_3$) enthalten. Das letzte jedoch nur in geringer Menge. Aus der Höhe der RF-Werte ist zu schließen, daß es sich in allen drei Fällen um mehr hydrophile Substanzen handelt.

1) Isolierung der Flavonoide F_1 und F_2

Zur Isolierung wurden die Flavonoide mit heißem Wasser aus der gepulverten Blattdroge herausgelöst und durch Essigesterperforation von den in der wäßrigen Phase zurückbleibenden Begleitstoffen abgetrennt. Die weitere Reinigung und Trennung der Flavonoide erfolgte an Polyamidsäulen. Als Chromatographierlösung diente 80%prozent. Methanol. Die nach Auftrennung im ultravioletten Licht dunkel erscheinende, die Flavonoide enthaltende Zone wurde mit Methanol eluiert und nochmals über Polyamid chromatographiert. Nach Einengen der fraktioniert gesammelten Eluate wurden zwei Stoffe F_1 (Ausbeute 0,0013%) und F_2 (0,002%) erhalten, die nach mehrmaliger Umkristallisation aus Athanol-Wasser-Gemischen wechselnder Zusammensetzung konstant schmolzen:

Flavonoid F_1 $F_p = 258-260^\circ$

Flavonoid F_2 $F_p = 255-257^\circ$

2.) Charakterisierung und Identifizierung
der Flavonoide F₁ und F₂

Auf Grund der positiven Reduktionsproben nach SHINODA(44) und PEW(45) ergab sich die Zugehörigkeit zur Flavongruppe.

Der Zirkon-Zitronensäure-Test nach HÖRHAMMER und HANSEL(46) gibt einen Hinweis auf das Vorliegen einer freien Hydroxygruppe am C₅, keine freie Hydroxygruppe am C₃: Die Gelbfärbung nach Zusatz von Zirkonoxychlorid verschwindet nach Zusatz von Zitronensäure.

Die Grünfärbung mit Eisen(III)chlorid läßt nach BRIGGS und LOKKER(47)(48) ebenfalls auf eine freie Hydroxygruppe am C₅ schließen.

Nach Neutralisation der reduzierten Lösungen beider Flavone mit Natriumkarbonat schlägt die Farbe von rosa nach violett um. Dies zeigt das Vorliegen einer freien Hydroxygruppe in 4'-Stellung an. Nach HÖRHAMMER und HANSEL(49) beruht die Reaktion auf einer Umlagerung des Anthocyans von der Carbenium- in die Phenolatform.

Absorptionsmaxima:

Flavon F ₁	max ₁	350 mμ	(e _{spez} =45,9)
	max ₂	256 mμ	(e _{spez} =43,7)
Flavon F ₂	max ₁	349 mμ	(e _{spez} =42,7)
	max ₂	257 mμ	(e _{spez} =41,4)

Der Kurvenverlauf von F₂ zeigt bei 268 mμ noch ein weiteres kleines Maximum an, das bei F₁ nur als Inflexion angedeutet ist.

Lösungsmittel bzw. Reagenz	Flavonoid F ₁			Flavonoid F ₂		
	max1	max	max	max1	max2	max
Methanol	350	256		349	257	
+Natrium- acetat	355	260	+5 +4	381	273	+32 +16
+Natr.acet. +Borsäure	375	260	+25 +4	375	263	+26 +4

Tabelle 1 : UV-spektrophotometrische Untersuchungen
der Flavonoide F₁ und F₂

Die Messungen können wie folgt interpretiert werden:

In beiden Substanzen stehen zwei freie Hydroxygruppen in Ortho-Stellung zueinander, da die Bande 1 des Spektrums in Gegenwart von Natriumacetat und Borsäure bathochrom verschoben wird. (50,51)

Die Substanz F₂ besitzt in 7-Stellung eine freie Hydroxygruppe, da im Natriumacetatmilieu eine deutliche bathochrome Verschiebung der kurzwelligen Absorptionsbande resultiert (51,52).

Das Flavon F₁ besitzt keine freie Hydroxygruppe in 7-Stellung. Diese ist entweder nicht vorhanden oder gebunden; es wurde nur eine geringe bathochrome Verschiebung der zweiten Bande im Natriumacetatmilieu gemessen (51,52).

Nach den UV-Spektren könnte es sich also in beiden Fällen um Luteolinderivate handeln. Einen weiteren Hinweis auf das Vorliegen dieses Aglykons lieferte die Alkalisplaltung, nach der bei beiden Stoffen Phloroglucin und Protokatechusäure als Spaltprodukte papierchromatographisch nachgewiesen werden konnten.

Nach Säurehydrolyse unter normalen Bedingungen ließen sich bei F₁ tatsächlich papierchromatographisch Luteolin und Glucose als Reaktionsprodukte nachweisen. Es handelt sich also um ein O-Glucosid des Luteolins.

Von den für eine Glykosidbildung möglichen Hydroxygruppen 3', 4', 5 und 7-Stellung kommt auf Grund der Farbreaktionen und der spektrophotometrischen Untersuchungen nur noch die 7-Stellung in Frage. Der endgültige Beweis für das Vorliegen von Luteolin-7-glucosid konnte durch papierchromatographischen Vergleich mit authentischem Luteolin-7-glucosid in drei verschiedenen Laufmitteln, durch Mischschmelzpunkt sowie Übereinstimmung der UV-Spektren erbracht werden.

Im Gegensatz zum Flavon F_1 trat unter Hydrolysebedingungen bei F_2 kein Aglykon auf, sondern es erfolgte eine teilweise Umwandlung in eine zweite Substanz annähernd gleicher Polarität. Diese sogenannte "Isomerisierung" ist für C-Glykoside mehrfach beschrieben worden (22-25).

Den Beweis für das Vorliegen eines solchen C-Glykosides lieferte die Jodwasserstoffreduktion nach RAMANATHAN und SESHADRI(59). Das bei dieser Reaktion entstehende Spaltprodukt konnte papierchromatographisch als Luteolin identifiziert werden.

Es sind bisher zwei C-Glykoside des Luteolins (8-Glykosyl-3', 4', 5, 7-tetraoxyflavone) bekannt: Orientin (57) und Homoorientin (27). Es lag daher nahe, zu vermuten, daß es sich bei unserem F_2 um eine dieser beiden Verbindungen handelt. Der RF-Wert der Verbindung F_2 (0,33; BEW 4:1:5) sprach eher für das Vorliegen von Orientin (0,33) als von Homoorientin (0,49). Außerdem stimmte der RF-Wert des Isomerisierungsproduktes von F_2 (0,49) mit dem des Homoorientins überein. Damit war das Vorliegen von Orientin sehr wahrscheinlich geworden. Durch papierchromatographischen Vergleich von F_2 mit authentischem Orientin in verschiedenen Laufmitteln, Schmelzpunkt sowie Übereinstimmung der UV-Spektren konnten wir die Identität beider Verbindungen bestätigen.

3) Papierchromatographische Identifizierung
von F₃ als Homoorientin

Das Flavonoid F₃ war in den Blättern von *Vitex megapotamica* nur in sehr geringer Menge vorhanden; es wurde daher nicht präparativ isoliert. Auf Grund seines RF-Wertes (0,49; BEW 4:1:5) lag die Vermutung nahe, es könnte sich um Homoorientin handeln. Die Vermutung wurde durch papierchromatographischen Vergleich mit authentischem Homoorientin in vier verschiedenen Laufmitteln bestätigt.

III. Ein bisher unbekanntes Triterpen aus den
Blättern von Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE:

Isolierung und Charakterisierung:

Beim Einengen des Vorlaufs der zum Auftrennen der Flavonoide an Polyamid benutzten Chromatographierflüssigkeit (80proz. Methanol) fiel eine Substanz an, die sich durch eine sehr gute Kristallisierfähigkeit auszeichnete. Wir erhielten sie in einer durchschnittlichen Ausbeute von 0,2%. Eigenartig ist ihr Verhalten beim Schmelzen: Während beim Umkristallisieren aus Wasser farblose tafelförmige Kristalle erhalten werden konnten ($F_p = 153-154^\circ$), wurden nach Umkristallisation aus Essigester-Methanol nadelförmige Kristalle erhalten, die bei $220-222^\circ$ schmolzen.

Die Substanz schmeckt bitter. Eine Lösung der Kristalle färbt sich beim Erwärmen mit verdünnten Säuren gelb. Das gelbe Zersetzungsprodukt ist ausschüttelbar. Beim Kochen mit 25proz. Salzsäure entsteht eine Grünfärbung und Abscheidung eines amorphen schmutziggrünen Niederschlages. Mit rauchender Salzsäure oder 80proz. Schwefelsäure erhält man eine kirschrote Färbung, die sich gut zum Nachweis der Substanz in der Droge heranziehen läßt: Übergießt man in einem Reagenzglas etwas gepulverte Blattdroge mit 80proz. Schwefelsäure, so tritt je nach Gehalt eine mehr oder weniger intensive Rotfärbung der Lösung auf.

Beim Erwärmen mit Laugen entsteht eine Gelbfärbung, die nach Ansäuern wieder verschwindet, nach erneutem Alkalisieren jedoch wieder auftritt (Indikatorwirkung). Ein Ausschütteln des gelben Reaktionsproduktes mit organischen Lösungsmitteln ist nicht möglich.

Auf Grund der CH-Werte standen zwei Bruttoformeln zur Diskussion:

$C_{15}H_{26}O_4$ (Molgew. 270,39) 1

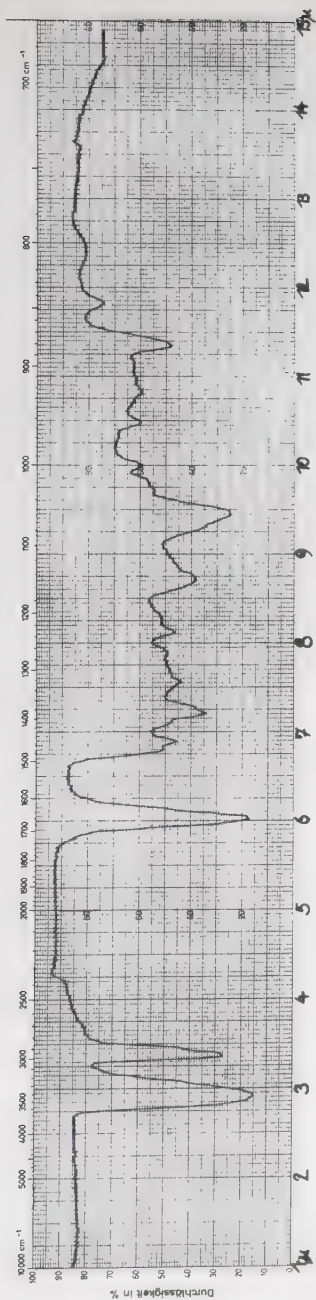
$C_{30}H_{50}O_8$ (Molgew. 538,75) 2

Die Molekulargewichtsbestimmung nach Rast ergab einen Wert von $M=504$, ein Wert, der auch nach der Methode der isothermen Destillation bestätigt werden konnte. Somit kommt der Formel 2 die größere Wahrscheinlichkeit zu.

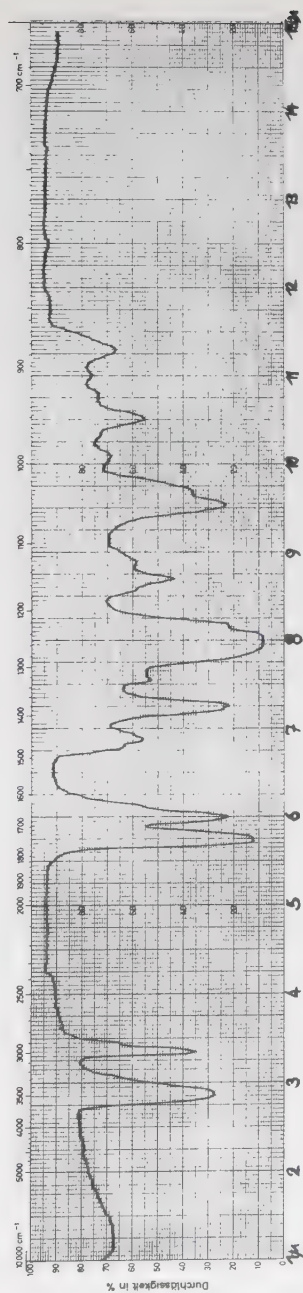
Die Liebermann-Burchert Reaktion(60) sowie die Reaktion mit Chlorsulfonsäure (61) ließen vermuten, daß es sich bei dem vorliegenden C_{30} -Körper um ein Triterpen handelt. Weiter ist erwähnenswert, daß sich die Substanz mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in Phosphorsäure violett färbt. Diese Reaktion ist auch von Gmelin(62) zum Nachweis der Curcubitacine benutzt worden. Bei der Prüfung auf Doppelbindungen mit Tetranitromethan (72) wurde keine Gelbfärbung erhalten.

Das UV-Absorptionsspektrum der Substanz zeigte ein Maximum bei 243 m μ ($\epsilon_{mol}=13500$), was nach FIESER(63) für das Vorliegen einer $\alpha\beta$ -ungesättigten Ketogruppe spricht. Diese Aussage steht nicht im Widerspruch zum Ergebnis der Tetranitromethan-Reaktion, da ein $\alpha\beta$ -ungesättigtes Keton keine Reaktion mit Tetranitromethan zeigt(72). Das Vorliegen einer solchen Gruppierung wird auch durch die Bande des IR-Spektrums bei 1655 cm^{-1} bestätigt(64).

Die Acetylierung in Pyridin mit Essigsäureanhydrid ergab ein kristallines Produkt ($F_p = 143-145^\circ$). Nach Verseifung des Acetylproduktes mit Barytwasser konnte die unveränderte Ausgangssubstanz papierchromatographisch wieder nachgewiesen werden. Die Analyse und die Acetylgruppenbestimmung des Acetats sprachen für das Vorliegen von vier Hydroxygruppen.



IR-Spektrum des Triterpens VT₁



Von den acht Sauerstofffunktionen der Bruttoformel sind somit fünf festgelegt: Vier durch die Acetylierung als Hydroxygruppen und eine als $\alpha\beta$ -ungesättigtes Keton.

Es war deshalb zu untersuchen, in welcher Form die restlichen drei Sauerstoffatome vorliegen. Dazu wurde eine Bestimmung des aktiven Wasserstoffs durchgeführt. Unter Zugrundelegung des Molekulargewichtes von 539 errechnete sich daraus das Vorhandensein von sieben aktiven Wasserstoffatomen, entsprechend vier acetylierbaren und drei nicht acetylierbaren OH-Gruppen.

Um diesen Befund zu erhärten, wurde ein IR-Spektrum des Acetylderivats aufgenommen. Die für freie OH-Gruppen charakteristische Absorptionsbande bei 3450 cm^{-1} (74) war zwar schwächer geworden, aber noch deutlich ausgeprägt. Daraus ist zu schließen, daß auch nach Acetylierung noch weitere Hydroxygruppen vorhanden sind, die jedoch unter normalen Bedingungen nicht zu acetylieren sind.

Eine eingehende Untersuchung des vorliegenden neuen Inhaltsstoffes konnte schon aus zeitlichen Gründen nicht durchgeführt werden. Mit Sicherheit glauben wir jedoch schon jetzt sagen zu können, daß es sich bei der hier beschriebenen Vitexsubstanz um ein bisher nicht bekanntes neuartiges Triterpen handelt. Die Substanz hat die Laborbezeichnung Vitextriterpen I (=VT₁) erhalten.

Die bisherigen Untersuchungsergebnisse führen zu der Vermutung, daß es sich um einen Vertreter der erst kürzlich entdeckten Stoffgruppe sauerstoffreicher tetracyclischer Triterpene vom Typus der Curcubitacine handelt. (65-67)

IV. Die Untersuchung des Holzes von *Vitex agnus castus* L.
und *Vitex megapotamica*(SPRENG.)MOLDENKE auf
Pseudoindikane und Flavonoide.

1) Pseudoindikane.

Im Holz von *Vitex megapotamica* konnten weder mit dem Reagenz nach TRIM und HILL(43) noch papierchromatographisch Pseudoindikane nachgewiesen werden.

Im Holz von *Vitex agnus castus* dagegen sind Pseudoindikane enthalten, wie eine Prüfung mit obigem Reagenz ergab. Es handelt sich, wie papierchromatographische Untersuchungen unter Mitlaufenlassen authentischer Vergleichssubstanzen zeigten, um Agnusid und Aucubin, also um die gleichen Pseudoindikanglykoside, wie sie auch in den Blättern der Pflanze vorkommen. (vgl.WINDE 1960(4)):

	RF.Werte im Laufmittel	
	BEW (4:1:5)	NaCl 5proz.
Holzextrakt v. V.agn.cast.	0,40 0,71	0,69 0,90
Agnusid	0,71	0,69
Aucubin	0,40	0,90

Tabelle 2: Vergleichende papierchromatographische Untersuchung eines Extraktes aus dem Holz von *V.agnus castus* auf Pseudoindikane.

2) Flavonoide.

a) Prüfung des Vorkommens bei *V.megapotamica*.

Mit der von uns gewählten Methodik konnten wir das Vorkommen von Flavonoiden im Holz nicht nachweisen. Extrahiert man in üblicher Weise und untersucht den Extrakt papier-

chromatographisch, so sind Flavonoide nicht nachweisbar. Auch durch Reduktionsproben nach SHINODA(44) und PEW(45) können Flavonoide, die durch diese Methode normalerweise erfaßt werden (Flavone, Flavanone), nicht nachgewiesen werden.

b) Die Flavonoide des Holzes von *Vites agnus castus*.

Im Holz von *Vitex agnus castus* kommen zwei hydrophile Flavonoide mit den RF-Werten 0,30 und 0,43 (BEW 4:1:5) vor, die sich papierchromatographisch von den in den Blättern vorkommenden Flavonen Casticin(RF 0,90), Luteolin-7-glucosid (0,50) und Homoorientin (0,49) unterscheiden.

Zur näheren Charakterisierung wurden beide Flavonoide durch präparative Papierchromatographie getrennt und die Eluate der entsprechenden Zonen untersucht.

Um O-Glykoside kann es sich nicht handeln, da nach Säurehydrolyse unter verschiedenen Bedingungen weder die Zuckerkomponente noch ein Aglucon nachgewiesen werden konnten. Dagegen erfolgt unter Einwirkung von n-Salzsäure bei beiden Flavonoiden eine teilweise Umwandlung in eine zweite Substanz, deren RF-Wert kleiner war als der der entsprechenden Ausgangssubstanz. Wurden die neu entstandenen Verbindungen aus dem Chromatogramm eluiert und wiederum mit n-Salzsäure behandelt, so erfolgte bei beiden Stoffen eine teilweise Umwandlung in die Ausgangsprodukte. Diese "Isomerisierung" läßt auf das Vorliegen von C-Glykosiden schließen(22-25).

Laufmittel	RF-Werte			
	Fa	Sa	Fb	Sb
Essigsäure 10%	0,30	0,15	0,47	0,22
Essigsäure 30%	0,52	0,35	0,60	0,47
Essigsäure 50%	0,60	0,47	-	-
BEW (4:1:5)	-	-	0,43	0,16

Tabelle 3: Papierchromatographie der beiden Flavonoide F_a und F_b vor (F) und nach (S) Behandeln mit Säure.

Die Eluate wurden ferner dazu verwendet, die zur Strukturaufklärung bewährten spektrophotometrischen Messungen durchzuführen. Gemessen wurde mit reinem Methanol als Lösungsmittel, ferner in Methanol unter Zusatz verschiedener Reagenzien. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt:

Lösungsmittel bzw. Reagenz	Flavonoid F_a				Flavonoid F_b			
Methanol	350	272			333	274		
+Natrium- acetat	400	281	+50	+9	380	283	+47	+9
+Natr.acet. +Borsäure	378	264	+28	-8	325	278	-8	+4
+Natrium- methylat	412	274	+62	+2	395 330	280	+62	+8
+Aluminium- chlorid	420	278	+70	+6	348 305	280	+15	+6

Tabelle 4: UV-spektrophotometrische Untersuchungen der Flavonoide F_a und F_b

Die Messungen können wie folgt interpretiert werden:

Die Substanz F_a besitzt in 7-Stellung eine freie Hydroxygruppe, da im Natriumacetatmilieu eine deutliche bathochrome Verschiebung der kurzwelligen Absorptionsbande resultiert (51,52).

Außerdem liegt wahrscheinlich eine o-Dihydroxygruppierung im Molekül vor, da die langwellige Absorptionsbande nach Zusatz von Natriumacetat und Borsäure bathochrom verschoben wird (50-55).

Auf das Vorliegen einer freien Hydroxygruppe in Nachbarstellung zu einer Carbonylgruppe (3 oder 5-Stellung) und ebenfalls auf das Vorliegen einer o-Dihydroxygruppierung läßt die starke bathochrome Verschiebung in Aluminiumchlorid schließen (53).

Ein Hinweis auf eine 4'-Hydroxylierung ist die starke bathochrome Verschiebung der langwelligen Bande in Natriummethylat. Eine Hydroxygruppe in 3-Stellung liegt nicht vor, da bei gleichzeitigem Vorliegen einer Hydroxygruppe in 3 und 4'-Stellung das langwellige Maximum nach Zusatz von Natriummethylat infolge Zersetzung verschwunden wäre (54,57).

Die analoge Auswertung der spektrophotometrischen Messungen bei der Verbindung F_b läßt auf das Vorliegen von drei Hydroxygruppen schließen, die in 5, 7 und 4'-Stellung angeordnet sind. Eine o-Dihydroxygruppierung ist nicht vorhanden, da keine bathochrome Verschiebung der langwelligen Bande in Natriumacetat und Borsäure auftritt (50-57).

Auffallend ist die Ähnlichkeit der Spektren von F_b mit denen des Vitexins. Die Spektren in Methanol sowie nach Zusatz von Natriummethylat und Aluminiumchlorid stimmen vollkommen überein. Im Natriumacetatmilieu sind die Banden etwas stärker bathochrom verschoben als die des Vitexins. Eine Abweichung tritt außerdem nach Zugabe

von Borsäure zu der natriumacetathaltigen Lösung auf. Während beim Vitexin die bathochromen Verschiebungen praktisch aufgehoben werden, resultiert beim F_b eine hypsochrome Verschiebung der Bande 1.

Der Ähnlichkeit der Verbindung F_b und Vitexin auf Grund der spektralen Daten steht aber ein völlig verschiedenes Verhalten nach der Isomerisierung gegenüber. Während das Isomerisierungsprodukt des Vitexins papierchromatographisch einen höheren RF-Wert aufweist, liegt der RF-Wert des Isomerisierungsproduktes von F_b tiefer als der des Ausgangsflavonoids. Außerdem unterscheiden sich die Verbindungen Vitexin und F_b auch im Laufmittel Eisessig-Wasser (1:1) in ihren RF-Werten um 0,05 (RF Vitexin 0,71; Flavonoid F_b 0,66).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß es sich bei den untersuchten Flavonoiden wahrscheinlich um C-Glykoside handelt. Auf Grund der spektralen Daten scheint bei F_a die 3', 4', 5 und 7-Stellung durch Hydroxygruppen besetzt zu sein, während bei der Verbindung F_b die 4', 5 und 7-Stellung hydroxyliert ist.

V. Die ätherischen Öle bei Vitex agnus castus L.

und Vitex megapotamica(SPRENG.)MOLDENKE

Die Blätter von Vitex agnus castus zeichnen sich durch einen intensiven Geruch aus. SCHIMMEL & Co.(37) gewannen 1908 durch Wasserdampfdestillation 0,48%, H.HAENSEL(38) 1909 0,36% ätherisches Öl.

Die Blätter von Vitex megapotamica waren dagegen völlig geruchlos; auch konnte durch Wasserdampfdestillation kein ätherisches Öl nachgewiesen werden. Da die Möglichkeit bestand, daß durch den Trocknungsprozeß ein Verlust von ätherischem Öl eingetreten war, wurde eine vergleichende mikroskopische Untersuchung der Blätter beider Arten vorgenommen:

Bei Vitex agnus castus kommen große Drüsenhaare mit einer breiten Stielzelle und einem vierzelligen, in Aufsicht kleeblattartigen Köpfchen vor. Daneben finden sich kleine Drüsenhaare mit ein-bzw. zweizelligen Köpfchen (BREITWIESER 1942)(13). Durch Anfärben mit Sudan III konnten diese Drüsenhaare sehr gut sichtbar gemacht werden. Dieselben kleeblattartigen Trichome kommen zwar auch bei V.megapotamica vor, allerdings in wesentlich geringerer Zahl. Es muß somit auf das Vorkommen von ätherischem Öl bei V.megapotamica geschlossen werden. Durch Auszählen der Drüsenhaare bei Exemplaren beider Arten lassen sich Rückschlüsse auf den relativen Gehalt an ätherischem Öl ziehen. Bei der Auszählung wurden nur die großen in Aufsicht kleeblattartigen Drüsenhaare berücksichtigt, da sie die Hauptmenge des ätherischen Öls enthalten. Drüsenhaare anderer Art konnten unberücksichtigt bleiben, da sie bei den von uns untersuchten Proben von Vitex megapotamica nicht anzutreffen waren. Im Falle einer Berücksichtigung wäre das Verhältnis nur noch mehr zu Gunsten von Vitex agnus castus verschoben worden.

Bei *Vitex agnus castus* wurden Drüsenhaare auf der Blattoberseite äußerst selten, bei *Vitex megapotamica* dagegen in keinem Falle gefunden. Auf der Blattunterseite unterscheiden sich beide Arten sehr stark in der Zahl der Drüsen. Während *Vitex agnus castus* durchschnittlich 61,1 Drüsenhaare pro mm^2 Blattfläche besitzt, finden sich bei *Vitex megapotamica* nur 3,4 Haare pro mm^2 . Das entspricht einem Verhältnis von 1:18.

Daß innerhalb der gleichen Gattung bei manchen Arten Drüsenhaare vorkommen, dagegen bei anderen Arten völlig fehlen, ist von vornherein nicht wahrscheinlich. Die quantitativen Unterschiede in der Zahl der Drüsen sind in unserem Falle beträchtlich. Damit erklärt sich der unterschiedliche Gehalt an ätherischem Öl.

VI. Diskussion.

Inhalts- stoffe	Vitex ag.cast.		Vitex megapot.		Vitex lucens		Vitex negund.		Vitex trifol.	
	Bl	Ho	Bl	Ho	Bl	Ho	Bl	Ho	Bl	Ho
Agnusid ^{xx}	+	+	-	-	o	+	+	o	+	-
Casticin ^{xxx} (lipophil. Flavon)	+	-	-	-	o	-	+	o	+	o
Flavon- C-u.O-glyk. (hydrophil)	+	+	+	-	o	+	+	o	+	o
Vitex- Triterp.I	-	-	+	-	•	-	o	o	o	o
Ätherisch. Öl	+	-	(+)	-	o	-	+	o	+	o

Tabelle 5: Zusammenstellung der wichtigsten bisher aus Vitexarten isolierten Stoffgruppen.

+ vorhanden
 Bl Blatt (+) sehr wenig vorhanden
 Ho Holz - nicht vorhanden
 o nicht untersucht

^{xx} Agnusid außerdem nachgewiesen in den Blättern von Vitex pubescens VAHL.(6)

^{xxx} Casticin außerdem nachgewiesen in den Früchten von Vitex agnus castus L., V.negundo L., V. macrophylla und V.sinensis MILL(42)

In den untersuchten Vitex-Arten treten drei Stoffe, Agnusid, Casticin und ein charakteristisches Triterpen auf, die außerhalb der Gattung Vitex bisher nicht nachgewiesen wurden. Man ist geneigt, solchen Stoffen mit einer engeren Verbreitung im Pflanzenreich eine taxonomische Wertigkeit zuzuschreiben. Unter diesen Gesichtspunkten wären für die Gattung Vitex Agnusid und Casticin charakteristisch.

Der tabellarischen Zusammenfassung entnimmt man jedoch, daß gerade diese beiden gattungscharakteristischen Pflanzenstoffe in *V. megapotamica* nicht vorkommen. Andererseits führt diese Art ein offenbar sehr seltenes Triterpen, das wiederum in den anderen Vertretern der Gattung nicht nachweisbar ist. *V. megapotamica* fällt somit in zweierlei Hinsicht aus dem Rahmen. Die Chemotaxonomie hat dafür keine Erklärung. Von einem vergleichend-physiologischen Standpunkt aus betrachtet kommt man vielleicht eher zu einer Deutung für die abweichende Stoffverteilung, zumindest für das Casticin. Gehen wir von der morphologisch feststellbaren Beobachtung aus, daß *V. megapotamica* wenig Exkretbehälter führt, so ist zu erwarten, daß der Gehalt an leicht-flüchtigen lipophilen Substanzen wie z.B. den ätherischen Ölen, die erfahrungsgemäß in solchen Behältern abgelagert werden, gering ist. Weitergehend könnte man dann die Vorhersage wagen, daß auch die lipophilen Varianten anderer sekundärer Pflanzenstoffe, beispielsweise der Flavonoide, nicht bzw. nur in geringen Mengen vorkommen. Das einzige bisher aus Vitexarten isolierte lipophile Flavonoid ist das Casticin, das ja auch bei der Isolierung zusammen mit fettem Öl anfällt. Dieses Casticin dürfte nun gemäß unserer Vorhersage bei *V. megapotamica* nur in geringen oder nicht nachweisbaren Mengen vorkommen. Das wurde durch unsere Untersuchungen vollauf bestätigt.

In analoger Weise eine Begründung für das Fehlen von Pseudoindikanen bzw. für das Vorkommen des Triterpens

in *V. megapota mica* zu geben, ist im augenblicklichen Stadium der Untersuchungen noch nicht möglich und wurde auch nicht angestrebt. Betrachtet man jedoch das Vorkommen dieser drei so seltenen offenbar taxoncharakteristischen Inhaltsstoffe innerhalb der Gattung *Vitex*, so ist es ganz offensichtlich, daß die Art *Vitex megapota mica* aus dem Rahmen der anderen *Vitex*arten herausfällt. Damit scheint sich auf chemischer Ebene zu wiederholen, was sich schon rein äußerlich sichtbar in den habituellen Unterschieden der Blätter ausprägte.

VII. Zusammenfassung.

Die in vorliegender Arbeit durchgeführten Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Aus dem Holz von *Vitex lucens* T.KIRK wurden zwei Pseudoindikane isoliert und als Agnusid und Aucubin identifiziert. Damit sind zum ersten Male in einer zu den Axillares gerechneten Vitexart Pseudoindikane nachgewiesen und daraus isoliert worden.

2. Zur Isolierung von Agnusid wurde eine einfache Isolierungsmethode der absorptiven Filtration entwickelt, wodurch die Ausbeute um 20% gesteigert werden konnte.

3. Aus den Blättern von *Vitex megapotamica* (SPRENG.) MOLDENKE wurden zwei Flavone isoliert und als Luteolin-7-glucosid und Orientin identifiziert. Ein drittes Flavon, das nur in geringer Menge vorlag, konnte papierchromatographisch als Homoorientin identifiziert werden.

4. Aus den Blättern von *Vitex megapotamica* (SPRENG.) MOLDENKE konnte ein bisher unbekanntes sauerstoffreiches Triterpen mit der Summenformel $C_{30}H_{50}O_8$ isoliert werden.

5. Im Holz von *Vitex agnus castus* L. wurden zwei Pseudoindikane nachgewiesen, die papierchromatographisch als Agnusid und Aucubin identifiziert werden konnten. Es handelt sich um die gleichen Pseudoindikanglykoside, die auch in den Blättern vorkommen.

6. Im Holz von *Vitex agnus castus* L. wurden zwei hydrophile Flavonoide mit den RF-Werten 0,30 und 0,43 (BEW 4:1:5) nachgewiesen, die sich von den in den Blättern vorkommenden Flavonoiden Casticin, Luteolin-7-glucosid und Homoorientin unterscheiden. Die nähere Untersuchung ergab, daß es sich wahrscheinlich um C-Glycoside vom Typ des Homoorientins handelt.

7. Im Holz von *Vitex megapotamica*(SPRENG.)MOLDENKE konnten weder Pseudoindikane noch Flavonoide gefunden werden. Auch das aus den Blättern isolierte Triterpen ist darin nicht nachzuweisen.

8. Die Ergebnisse wurden vom chemotaxonomischen Standpunkt aus diskutiert.

B Experimenteller Teil

Allgemeines.

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Leitz-Heiztischmikroskop bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die UV-spektrophotometrischen Untersuchungen erfolgten mit dem Spektrophotometer DU Modell G 2400 der Firma Beckmann. Die Messungen wurden in Quarzküvetten, Schichtdicke 1cm, durchgeführt.

Die IR-Spektren wurden mit einem Leitz-IR-Spektrophotometer aufgenommen. Zur Messung gelangten KBr-Preßlinge.

Für die Papierchromatographie wurde das Papier Schleicher und Schüll 2043 bM verwendet. Es wurde aufsteigend entwickelt, sofern nicht etwas anderes vermerkt ist. Die Konzentrationsangaben der Laufmittel beziehen sich auf Volumina (v/v). Zur Anfertigung der Chromatogramme wurden die 20x20cm großen Bögen zu Zylindern geformt und in abgeschlossenen Glaskammern entwickelt. Bei zweidimensionaler Chromatographie lag der Startpunkt 2x2cm von einer Ecke des Papiers entfernt. In der ersten Dimension wurde mit der Oberphase des Systems Butanol-Essigsäure-Wasser (BEW 4:1:5) entwickelt und das Chromatogramm bei Zimmertemperatur getrocknet. Nach Drehen des Papiers um 90 Grad wurde in der zweiten Dimension im System Eisessig-Wasser(1:10) entwickelt.

Die Versuche wurden jeweils durch zweidimensionale Papierchromatographie der Drogenauszüge eingeleitet, um einen Überblick über die Inhaltsstoffe zu bekommen.

Das Einengen der Lösungen erfolgte im Rotationsverdampfer der Firma W.Büchi.

Die mit + bezeichneten Untersuchungen wurden im mikroanalytischen Labor A.Bernhardt, Institut für Kohleforschung, Mülheim/Ruhr durchgeführt.

I. Die Pseudoindikane des Holzes von

Vitex lucens.T.KIRK.

1) Vorproben:

Reagenz nach TRIM und HILL(43):

Ein Teil einer 0,2proz.Kupfersulfatlösung wird mit 0,5 Teilen Salzsäure (25proz.) und 10 Teilen Eisessig vermischt.

Etwa 1 g frisch hergestelltes Holzmehl der Droge wurde mit 10 ml Wasser unter Zusatz einer Messerspitze Calciumcarbonat fünf Minuten gekocht und anschließend filtriert. Etwa 2 ml des Auszuges wurden mit der gleichen Menge Reagenzlösung versetzt und zum Sieden erhitzt. Bei Gegenwart von Pseudoindikanen entsteht nach einer Minute je nach Gehalt eine mehr oder weniger intensive Blaufärbung.

Papierchromatographie:

Je 0,1 ml des Pflanzenauszuges wurden auf die Startpunkte des Chromatographiepapiers aufgetragen und im System BEW (4:1:5) entwickelt. Die Kennzeichnung der Flecken erfolgte durch Besprühen mit 5proz. methanolischer Trichloressigsäurelösung und nachfolgendem kurzen Erhitzen auf 105° im Trockenschrank. Dabei bilden sich infolge Hydrolyse der Glykoside und Polymerisation der Aglyka schmutzig blaue Flecken aus.

Der Pflanzenauszug von Vitex lucens zeigte zwei solcher Flecken mit den RF-Werten 0,40 und 0,70. Aucubin(0,40) und Agnusid(0,71) liefen als Vergleichssubstanzen mit.

2) Isolierung der Pseudoindikane P₁ und P₂.

Die Droge bestand aus armdicken Ästen, die von der Rinde befreit, zersägt und maschinell grob gepulvert wurden. 2 kg des frisch hergestellten Holzmehles wurden dreimal mit je 5 l 80proz. Methanol zwei Stunden am Rückfluß unter Zusatz von 10g Calciumcarbonat gekocht und anschließend abgepreßt. Es ließen sich dann nur noch Spuren von Pseudoindikan im Holzmehl nachweisen. Die filtrierte, gelbbraun gefärbte Auszüge wurden vereinigt, im Vakuum auf 1 l eingengt und mehrmals mit Petroläther ausgeschüttelt, bis dieser sich klar und farblos von der wäßrigen Phase abschied. Dann wurde weiter zur Trockne eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol gelöst, die Lösung mit 100 g Polyamidpulver (Versuchsmuster PP 15 SP BASF) vermischt und die Mischung im Vakuum getrocknet. Das so imprägnierte Polyamidpulver wurde in Wasser suspendiert und die Suspension auf eine bereits mit 250 g Polyamidpulver bestückte Säule (ca. 6 cm Durchmesser; Schichtdicke 25 cm) gegeben. Nach dem Absetzen wurde die Säule mit Wasser (2 l) und darauf mit 10proz. Methanol (3 l) eluiert. Die vereinigten pseudoindikanhaltigen Fraktionen des Eluats - 4 l - (Prüfung mit dem Reagenz nach TRIM und HILL(43)) wurden zur Trockne eingedampft und der gelbbraune gallertartige Rückstand mit wenig eiskühlem Wasser gewaschen. Nun wurde heißes Wasser hinzugefügt, bis der größte Teil des Rückstandes gelöst war, filtriert und die Lösung im Kühlschrank auf 4° abgekühlt. Dabei war eine gallertartige graugrüne Masse entstanden, die scharf abgesaugt wurde. Es blieb ein graues Pulver zurück, das mehrmals je drei Minuten mit wasserfreiem Essigester ausgekocht wurde. Die Essigesterlösungen wurden heiß filtriert und bei Zimmertemperatur eingedampft.

Dabei fiel bereits weitgehend reines Pseudoindikan P_1 an, das nach nochmaliger Umkristallisation aus wasserfreiem Essigester einen Schmelzpunkt von $145-146^{\circ}$ aufwies. Ausbeute 90 mg P_1

Zur Gewinnung des Pseudoindikans P_2 wurde der in Essigester unlösliche Rückstand mit dem Waschwasser vereinigt und die Lösung mit Essigester perforiert, um Reste von Agnusid zu entfernen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne eingeeengt und der Rückstand mit etwa der gleichen Menge Seesand verrieben. Diese Verreibung wurde drei Stunden im Soxhlet mit Äthanol (5:95) ausgezogen und der Auszug bis fast zur Trockne eingedampft. Dann wurde mit 50 ml absolutem Äthanol aufgenommen, die heiße, schwach gelbgefärbte Lösung über Kohlepulver farblos filtriert und unter Zusatz von etwas Petroläther bis zur leichten Trübung zum Auskristallisieren stehen gelassen. Nach etwa zehntägigem Stehen im Kühlschrank bildeten sich kleine weiße Rosetten ($F_p = 180-181^{\circ}$). Nochmalige Umkristallisation aus 96proz. Alkohol führte zu keiner Erhöhung des Schmelzpunktes. Ausbeute: 180 mg P_2

Das zu Vergleichszwecken erforderliche Agnusid wurde aus den Blättern von *Vitex agnus castus* nach Abtrennen des Chlorophylls nach derselben Methode isoliert. Ausbeute : 0,35 % bezogen auf Trockendroge.

Aucubin zu Vergleichszwecken wurde aus dem Samen von *Plantago lanceolata* in Anlehnung an die Methode nach KARRER und SCHMID(68) isoliert, wie sie EHLICH(69) in seiner Dissertation beschrieben hat. Ausbeute: 0,4 % bezogen auf Droge.

3) Identifizierung von P₁ als Agnusid und

P₂ als Aucubin.

IR-Spektren:

P ₁ cm ⁻¹	Agnusid cm ⁻¹	P ₂ cm ⁻¹	Aucubin cm ⁻¹
3380 s	3380 s		
2890 s	2890 s	3208 s	3208 s
1696 s	1696 s	2842 s	2842 s
1656 m	1656 m		
1610 s	1610 s	1640 s	1640 s
1514 m	1514 m		
1446 s	1446 s	1460 m	1460 m
1370 m	1370 m		
1313 m	1313 m	1346 s	1346 s
1274 s	1274 s	1282 s	1282 s
1166 s	1166 s	1230 m	1230 m
1105 m	1105 m	1143 m	1143 m
1046 m	1046 m		
1012 w	1012 w		
960 m	960 m	960 s	960 s
		912 m	912 m
		898 m	898 m
851 s	851 s	844 s	844 s
		773 s	773 s
770 s	770 s		
		749 s	749 s

Tabelle 6: Gegenüberstellung der einzelnen Banden der IR-Spektren von P₁ und Agnusid bzw. P₂ und Aucubin.

UV-Spektren von Agnusid und P₁:

Die UV-Spektren von Agnusid und Pseudoindikan P₁ stimmten überein:

$$\lambda_{\text{max}} \quad 259 \text{ m}\mu ; \epsilon_{\text{mol}} = 16900$$

$$\lambda_{\text{min}} \quad 226 \text{ m}\mu ; \epsilon_{\text{mol}} = 4150$$

Lösungsmittel: Methanol p.A. "Merck"

Konzentration: 10^{-4} Mol/l

Acetylierung von Aucubin und P₂ :

60 mg P₂ wurden in 2 ml Pyridin gelöst und 4 ml Essigsäureanhydrid dazugegeben. Nach 48 Stunden wurden 10 ml Eiswasser hinzugefügt, um das überschüssige Anhydrid zu verseifen, und 20 Minuten später das Acetat mit Äthanol-Essigester (1:1) ausgeschüttelt. Zur Entfernung des Pyridins und der Essigsäure wurde je einmal mit 50proz. Natriumbikarbonatlösung, 1proz. Salzsäure, nochmals 5proz. Natriumbikarbonatlösung ausgeschüttelt und schließlich mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Nach 24stündigem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat wurde die Äthanol-Essigesterphase auf ein kleines Volumen - etwa 3 ml - eingeengt und Petroläther bis zur leichten Trübung zugegeben. Nach dreitägigem Stehen im Kühlschrank hatten sich rosettenartige Kristalle gebildet, die einen Schmelzpunkt von 128-129° aufwiesen.

Das nach der gleichen Vorschrift bereitete Acetyl-derivat des Aucubins schmolz bei 127-128°. Der Mischschmelzpunkt war nicht erniedrigt.

Umfällen von Agnusid:

Zur Aufnahme eines Kernresonanzspektrums wurde Agnusid folgendermaßen von organischen Lösungsmittelresten befreit: Die heiße gesättigte wäßrige Lösung wurde im Kühlschrank auf 4° abgekühlt; nach ca. 30 Minuten hatte sich das Agnusid als farblose Gallerte abgeschieden. Der

Niederschlag wurde auf eine Filternutsche gebracht und scharf abgesaugt. Nach dem Trocknen des Rückstandes bei etwa 30° wurde die körnige Masse zu einem feinen Pulver zerrieben. Die mikrokristalline Struktur dieses Pulvers konnte im polarisierten Licht festgestellt werden. Der Schmelzpunkt des 24 Stunden bei 30° getrockneten Pulvers lag bei $154-155^{\circ}$.

II. Die Flavonoide der Blätter von Vitex megapotamica (SPRENG.) MOLDENKE.

1.) Isolierung der Flavonoide F₁ und F₂:

Das Blattmaterial wurde von Stengelteilen befreit und die Blätter zu einem groben Pulver zerkleinert. Die Ausgangsmenge betrug 1,5 kg Pulver.

Die Blätter wurden in 1 l siedendes Wasser eingetragen und 15 Minuten im Sieden gehalten. Dann wurde abgepreßt und dieser Arbeitsgang noch zweimal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck auf etwa 2 l eingeeengt. Durch Dekantieren konnte ein Teil der unlöslichen Begleitstoffe entfernt werden. Ein weiterer Teil wurde durch Ausschütteln mit Petroläther abgetrennt.

In einem Perforator wurde der wäßrige Extrakt nun solange mit Essigester (60 Stunden) perforiert, bis sich papierchromatographisch keine Flavonoide mehr in der wäßrigen Phase nachweisen ließen. Um die extrahierten Stoffe nicht unnötig der Wärme auszusetzen, wurde die Vorlage nach je fünf Stunden gewechselt.

Die vereinigten Essigesterauszüge wurden im Vakuum eingeeengt und der Rückstand viermal mit je 50 ml kochendem Wasser ausgerührt. Die filtrierte wäßrige Lösung wurde vereinigt, konzentriert und auf eine Perlonsäule gegeben. Die 50 cm lange Säule hatte eine lichte Weite von 6 cm und war bis zu einer Höhe von 35 cm mit Polyamid (Versuchsmuster BASF PP 15 SP) gefüllt, das zuvor mit je 3 l Methanol und Wasser gewaschen worden war.

Chromatographiert wurde mit 80proz. Methanol, wobei die Auftrennung der einzelnen Zonen im ultraviolettem Licht verfolgt werden konnte. Zur Auftrennung über die gesamte Länge der Säule waren 4 l Chromatographierlösung

erforderlich. Nach dieser groben Vortrennung des Pflanzenextraktes wurde die noch feuchte Perlon" wurst" mit Wasserdruck aus der Säule herausgepreßt und in die einzelnen, im ultraviolettem Licht verschiedenfarbigen Zonen zerlegt. Anschließend wurde jede Zone mit reinem Methanol eluiert.

Das Eluat der im ultraviolettem Licht dunkel erscheinenden, die Flavonoide enthaltende Zone wurde eingeeengt und nochmals über eine schmalere Perlonsäule (4 cm lichte Weite, 40 cm Länge) aufgetrennt. Im unteren Teil der Säule trennte sich dabei die bisher einheitlich erschienene Zone in zwei gegeneinander abgegrenzte Teile auf. Die diesen Zonen entsprechenden Eluate wurden getrennt aufgefangen, eingeeengt und zum Auskristallisieren in den Kühlschrank gestellt. Die Substanz F_1 wurde dreimal aus 50proz. Äthanol umkristallisiert und wies dann einen Schmelzpunkt von $258-260^{\circ}$ (Zers.) auf. Ausbeute: 20mg

Das Flavonoid F_2 wurde zur Umkristallisation in absolutem Äthanol gelöst, bis zur leichten Trübung eingeeengt und nach Zusatz von einigen Tropfen Wasser zum Auskristallisieren bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach zweimaliger Umkristallisation war ein Schmelzpunkt von $255-257^{\circ}$ erreicht. Ausbeute: 30mg.

2) Charakterisierung und Identifizierung.

Farbreaktionen:

Reduktionsproben:

Nach SHINODA(44) wurden einige Kristalle der Substanzen F_1 und F_2 in wenig Methanol gelöst und mit und mit einer Messerspitze Magnesiumpulver und einigen Tropfen 25proz. Salzsäure versetzt. Unter lebhafter Gasentwicklung nahmen die Lösungen eine erdbeerröte Farbe an.

Verwendet man nach PEW(45) anstelle des Magnesiumpulvers Zinkgranulat, so tritt eine rosa Färbung erst erst nach etwa einer Minute auf.

Zirkon-Zitronensäure-Test:

Nach HÖRHAMMER und HÄNSEL(46) wurden je 1 mg der beiden Flavonoide in 10 ml Methanol gelöst und die Lösungen mit je 1 ml einer 2proz. methanolischen Zirkonoxychloridlösung versetzt; dabei trat in beiden Fällen eine starke Gelbfärbung auf. Dann wurden je 1 ml einer 2proz. methanolischen Zitronensäurelösung zugegeben und mit Wasser auf 80 ml verdünnt. Während die Lösung von F₁ noch einen schwach gelben Schimmer zeigte, war die Lösung von F₂ wieder vollkommen farblos geworden.

Eisenchloridreaktion:

Je 1 mg der Flavonoide wurden in 2 ml Methanol gelöst und mit einem Tropfen einer 1proz.methanolischen Eisen(III)chloridlösung versetzt. Die Lösungen färbten sich sofort olivgrün.(47,48)

UV-spektrophotometrische Untersuchungen.

Die Konzentration der gemessenen Lösungen betrug durchschnittlich $5 \cdot 10^{-5}$ Mol/l.

Gemessen wurde in

- a) reinem Methanol
- b) gesättigter methanol.Natriumacetatlösung
- c) Natriumacetat 0,5%; Borsäure 1% in Methanol

Die Messung erfolgte bei a) sofort, bei b) und c) nach 10 Minuten.

Alkalispaltung.

Je 5 Rotuli Kaliumhydroxyd wurden auf dem Parafinbad geschmolzen, je 5 mg der Substanzen F₁ und F₂ zugesetzt und etwa drei Minuten auf einer Temperatur von 205° gehalten. Nach dem Erkalten wurden die erstarrten Schmelzen in wenig Wasser gelöst und mit verdünnter Salzsäure schwach angesäuert. Die saure Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abgedampft, der

Rückstand in etwas Methanol aufgenommen und im System BEW (4:1:5) chromatographiert. Als Vergleichssubstanzen liefen Protocatechusäure und Phloroglucin mit. Die getrockneten Chromatogramme wurden unter der UV-Lampe unbehandelt und nach Bedampfen mit Ammoniak sowie im Tageslicht nach Besprühen mit diazotiertem p-Nitranilin verglichen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 7:

Substanz	RF-Werte	Farbreaktionen		
		UV		diazot. Nitranil.
		unbehand.	+ NH ₃	
Alkaliabbau F ₁	0,68	violett	hellblau	orange
	0,80	blaßblau	blaßblau	violett
Alkaliabbau F ₂	0.69	violett	hellblau	orange
	0.80	blaßblau	blaßblau	violett
Phloroglucin	0,67	violett	hellblau	orange
Protocatechu- säure	0,80	blaßblau	blaßblau	violett

Tabelle 7: Chromatographie des Alkaliabbaus der Flavone F₁ und F₂

Verhalten gegenüber Säuren.

Säurehydrolyse von F₁:

5 mg Substanz wurden in 1 ml Methanol gelöst und mit 1 ml 15proz. Salzsäure drei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Dann wurde mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt und zehnmal mit Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigesterphasen wurden mit Wasser säurefrei gewaschen und im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde in etwas Methanol aufgenommen und chromatographiert. In zwei verschiedenen Laufmitteln zeigte das Aglykon (A₁) Übereinstimmung mit authentischem Luteolin(L):

RF 30% Essigsäure A_1 0,20; L 0,20

RF BEW (4:1:5) A_1 0,80; L 0,79

Untersuchung auf Zucker.

Die wäßrige Phase des Hydrolysates wurde zunächst mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt und die saure Lösung zur Neutralisation über eine kleine Säule, die mit 4g des schwach basischen Ionenaustauschers II "Merck" gefüllt war, gegeben. Die gewonnene neutrale Lösung wurde bis fast zur Trockne eingengt und papierchromatographisch untersucht. Als Laufmittel diente Pyridin-Essigester-Wasser (1:2:2). Verschiedene Zucker liefen als Vergleichssubstanzen mit.

Nach dem Trocknen wurden die Chromatogramme sofort mit einer Lösung von 1,66g Phthalsäure und 0,93 Anilin in 100 ml mit Wasser gesättigtem n-Butanol(71) besprüht und anschließend 10 Minuten im Trockenschrank bei 105° getrocknet.

Das Hydrolysat von F_1 zeigte einen Fleck von gleichem RF-Wert (0,39) und gleicher brauner Farbe wie die mitlaufende Glukose. Die Übereinstimmung des F_1 Zuckers mit Glukose konnte auch im System BEW (4:1:5) bestätigt werden (RF 0,21).

Isomerisierung von F_2 :

5 mg F_2 wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit der gleichen Menge 2n Salzsäure sechs Stunden am Rückfluß gekocht. Nach Abdampfen des Methanols wurde die Lösung fünfmal mit je 5 ml Butanol ausgeschüttelt, mit Wasser säurefrei gewaschen und auf ein kleines Volumen eingengt. Die papierchromatographische Untersuchung zeigte, daß die Lösung F_2 einen Fleck ähnlicher Polarität (S_2) enthielt. Eine Substanz, deren RF-Wert auf ein Aglykon schließen ließ, konnte nicht nachgewiesen werden.(s.Tab.8)

Nach Trennung beider Flecken durch präparative

Papierchromatographie (Methodik s.S.64) wurde das Eluat entsprechend der Verbindung S_2 abermals den Bedingungen einer Säurehydrolyse unterworfen. Die papierchromatographische Prüfung ergab, daß wiederum eine "Isomerisierung" eingetreten war, und dieses Spaltprodukt in mehreren Laufmitteln mit dem Ausgangsflavon F_2 übereinstimmte:

Laufmittel	RF-Werte	
	F_2	S_2
Essigsäure 10%	0,14	0,31
Essigsäure 30%	0,39	0,59
Essigsäure 50%	0,50	0,66
BEW (4:1:5)	0,33	0,50

Tabelle 8 : RF-Werte des Flavonoids F_2 und seines Isomerisierungsproduktes S_2

Die neutralisierte wäßrige Phase des Hydrolysats wurde wie oben beschrieben papierchromatographisch auf Zucker untersucht. Das Chromatogramm zeigte einige sehr schwache Flecken; ein Zucker konnte jedoch nicht identifiziert werden.

Jodwasserstoffreduktion (59)

Etwa 5 mg des Flavonoids F_2 wurden mit 0,2 ml verflüssigtem Phenol und 0,3 ml frisch destillierter Jodwasserstoffsäure ($d = 1,7$) acht Stunden am Rückfluß auf dem Ölbad zum Sieden erhitzt. Die abgekühlte braune Lösung wurde in 5 ml einer gesättigten wäßrigen Natriumdithionitlösung gegossen, wobei eine gelbliche Opalescenz entstand. Es wurde zehnmal mit je 2 ml Essigester ausgeschüttelt, die Essigesterphase nach Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat bis fast zur Trockne eingengt und

in wenig Methanol aufgenommen. Papierchromatographisch zeigte das Reduktionsprodukt (R_2) Übereinstimmung mit authentischem Luteolin (L):

RF (Essigsäure 30proz.): R_2 0,20; L 0,20

RF (BEW 4:1:5) : R_2 0,78; L 0,78

Papierchromatographische Vergleiche.

a) Authentisches Luteolin-7-glucosid und F_1 wurden einzeln und als Gemisch aufgetragen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 9:

Laufmittel	RF-Werte		
	Lut-7gluc.	F_1	Lut-7gluc.+ F_1
BEW(4:1:5)	0,51	0,50	0,50
Isoprop.-Ameisens. Wasser (10:2:3)	0,41	0,41	0,41
Essigsäure 30proz.	0,30	0,30	0,30

Tabelle 9: Papierchromatographischer Vergleich von Luteolin-7-glycosid und F_1 in verschiedenen Laufmitteln.

b) Authentisches Orientin und F_2 wurden einzeln und als Gemisch aufgetragen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 10:

Laufmittel	RF-Werte		
	Orientin	F_2	Orientin + F_2
BEW(4:1:5)	0,33	0,33	0,33
Isoprop.-Ameisens. Wasser (10:2:3)	0,47	0,47	0,47
Essigsäure 50proz.	0,50	0,50	0,50

Tabelle 10: Papierchromatographischer Vergleich von Orientin und F_2 in verschiedenen Laufmitteln.

3) Papierchromatographische Identifizierung des Flavonoids F₃ als Homoorientin.

Das Flavonoid F₃ wurde durch präparative Papierchromatographie (vgl. S. 64) von den beiden anderen Flavonoiden abgetrennt. Dazu wurde das Flavonoidgemisch streifenförmig auf die Startlinien des Chromatogramms aufgetragen und absteigend im System BEW (4:1:5) entwickelt, wobei das Flavonoid F₂ (RF 0,33) von den anderen beiden Flavonoiden (RF 0,50 bzw. 0,49) getrennt werden konnte. Nach Elution aus dem Papier wurde das Flavonoidgemisch von F₁ und F₃ auf ein Chromatogramm aufgetragen und im System Eisessig-Wasser (1:10) entwickelt, wodurch sich die Flavonoide F₁ (0,08) und F₃ (0,24) trennen ließen. Die Zone entsprechend dem Flavonoid F₃ bei RF 0,24 wurde aus dem Papier eluiert und das Eluat in verschiedenen Laufmitteln mit authentischem Homoorientin verglichen.

Laufmittel	RF-Werte		
	Homoorientin	F ₃	Homoor. + F ₃
BEW (4:1:5)	0,49	0,49	0,49
Essigsäure 50proz.	0,66	0,67	0,67
Essigester-Ameisens. Wasser (10:2:3)	0,40	0,40	0,40

Tabelle 11: Papierchromatographischer Vergleich
von Homoorientin und F₃ in verschiedenen
Laufmitteln.

III. Ein bisher unbekanntes Triterpen (VT₁) aus den
Blättern von Vitex megapotamica (SPRENG.) MOLDENKE.

1) Isolierung:

Beim Einengen des bei der Auftrennung der Flavonoide an Polyamid erhaltenen Vorlaufs (s.S.51), fiel ein schwach gelber Lack an, aus dem nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Wasser farblose tafelförmige Kristalle erhalten werden konnten. ($F_p = 153-154^\circ$).

Wurden diese Kristalle aus Essigester-Methanol umkristallisiert, so fielen feine Nadeln vom Schmelzpunkt $220-222^\circ$ an.

Ausbeute: 2,4g aus 1,5 kg Trockendroge.

2) Charakterisierung:

Löslichkeit:

Die Substanz ist gut löslich in Methanol, Äthanol und Wasser, wenig löslich in Essigester, Äther, Aceton und Dioxan und praktisch unlöslich in Benzol und Petroläther.

Bestimmung der optischen Aktivität:

Die Bestimmung erfolgte mit dem Polarimeter nach Schmidt-Haensch. Dazu wurden 270 mg Substanz in 30 ml Methanol gelöst und der Drehwinkel nach 15 Minuten abgelesen. Die Schichtdicke der Lösung betrug 4 dm. Eine Änderung des Drehwertes konnte weder nach 5 Stunden noch nach 24 bzw. 48 Stunden beobachtet werden.

$$\alpha = 2,51$$

$$\left[\alpha \right]_D^{20} = + 69,5 \quad c = 0,9 \text{ Methanol}$$

Elementaranalyse:

Zur Bestimmung gelangte eine aus Wasser (1) und eine aus Essigester-Methanol (2) umkristallisierte Probe. Beide Proben wurden zuvor im Hochvakuum bei 80° bis zur

Gewichtskonstanz getrocknet; sie verloren dabei etwa 13% ihres Gewichtes. Der Sauerstoff wurde direkt bestimmt; folgende Werte wurden ermittelt:

1	2
C 66,49%	C 66,94%
H 9,69%	H 9,20%
O 23,98% bzw. 23,93%	O 23,70%

berechnet.

für $C_{15}H_{26}O_4$	bzw.	$C_{30}H_{50}O_8$
(Mol.Gew. 270,39)		(Mol.Gew. 538,75)
C 66,63%		C 67,10%
H 9,69%		H 9,12%
O 23,67%		O 23,80%

Bestimmung des aktiven Wasserstoffs⁺:

Gefunden: 1,27% Berechnet für 7 akt.H : 1,30%

Molekulargewichtsbestimmung:

Die Molekulargewichtsbestimmung nach Rast⁺ ergab einen Wert von $M = 504$

Bei der Bestimmung des Molekulargewichtes durch isotherme Destillation ⁺⁺) wurde ein Wert von $M = 480 \pm 10\%$ ermittelt.

Farbreaktionen:

Liebermann-Burchard(60) Reaktion:

Ein Kristall wurde in 1 ml Essigsäureanhydrid unter leichtem Erwärmen gelöst und ein Tropfen konzentrierte Schwefelsäure dazugegeben. Es trat eine schwache, nach einigen Minuten kräftiger werdende Violettfärbung der Lösung auf.

⁺⁺) Wir danken Herrn Privatdozent Dr. Frömming vom Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin für die Durchführung dieser Bestimmung.

Fichtenspanreaktion:(70)

Auf einen frischen Fichtenhobelspan wurde ein Tropfen der methanolischen Lösung der Substanz aufgetragen. Nach Befeuchten mit einem Tropfen rauchender Salzsäure trat Grünfärbung des Spans auf.

Reaktion mit Eisen(III)chlorid:

Bei Zusatz von 5 Tropfen Eisen(III)chlorid-Lösung (1proz.in Methanol) zur methanolischen Lösung der Substanz trat keine Färbung auf.

Dünnschichtchromatographie:

Die Untersuchung erfolgte auf Glasplatten 19x19 cm, die mit Kieselgel G "Merck" nach der Arbeitsvorschrift von STAHL(61) hergestellt worden waren. Als Fließmittel diente Äthanol-Chloroform (1:1). Die Substanz ist auf den unbehandelten Platten als dunkler Fleck im kurzwelligen UV-Licht ^{x)} sichtbar. (RF = 0,50)

Sprühmittel:

1) Chlorsulfonsäure-Eisessig Reagenz(61):

Die Platten wurden mit einer Mischung von 5 ml Chlorsulfonsäure und 10 ml Eisessig besprüht und anschließend 5 Minuten auf 130° erhitzt. Der nach Besprühen graubraune Fleck zeigte unter der UV-Lampe eine hellblaue Fluorescens.

2) p-Dimethylaminobenzaldehyd in Phosphorsäure(62):

Die Platten wurden mit dem Reagenz (0,1g p-Dimethylaminobenzaldehyd werden in einem Gemisch aus zwei Teilen 84proz. Phosphorsäure und 8 Teilen Äthanol gelöst) besprüht und danach 20 Minuten auf 120° erhitzt. Der Fleck färbte sich violett.

^{x)}Klein-UV-Analysenlampe Pula (Purinlampe)

UV-spektrophotometrische Untersuchung:

1,88 mg des Triterpens wurden in 100 ml reinem Methanol gelöst. Davon wurden ca. 2 ml zur Messung verwendet.

$$\lambda_{\text{max}} = 243,5 \text{ m}\mu \quad (E = 0,473)$$

Unter Zugrundelegung des Molekulargewichtes von $M = 538,75$ ergibt sich somit für den molaren Extinktionskoeffizienten

$$\epsilon_{\text{mol}} = 13\,553$$

Acetylierung:

100 mg der Substanz VT₁ wurden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt und drei Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde das Reaktionsgemisch in 100 ml eisgekühltes Wasser gegossen, wobei eine milchige Trübung eintrat. Das Acetat wurde mit Äther aus der wäßrigen Phase ausgeschüttelt und die Ätherphase nacheinander durch Ausschütteln mit 0,1 n Salzsäure, 0,1 n Natronlauge und Wasser gereinigt. Aus der eingengten Ätherphase kristallisierten nadelförmige Kristalle aus, die aus wasserfreiem Äthanol umkristallisiert wurden ($F_p = 143-145^\circ$). Ausbeute 60 mg.

Bei der Analyse des Acetats ⁺⁺⁺⁾ wurden folgende Werte erhalten:

Gefunden:	Berechnet für $C_{38}H_{60}O_{12}$	
C 63,88%	C 64,20%	
H 8,41%	H 8,62%	
O 27,43%	O 27,43%	(Mol.Gew.709)
CH_3CO 24,67%	4 CH_3CO 24,23%	

Der Sauerstoff wurde direkt bestimmt.

⁺⁺⁺⁾ Herrn Dipl.Ing.J.Huber von der Fa.Schering AG.Berlin danken wir sehr herzlich für die Durchführung dieser Bestimmungen.

Verseifung des Acetylproduktes:

Das Acetat wurde mit 5proz. methanolischer Lösung von Bariumhydroxyd auf dem Wasserbad am Rückfluß erhitzt. Dabei trat eine schwache Gelbfärbung der Lösung auf. Nach Abdampfen des Methanols wurde der Rückstand in absolutem Äthanol aufgenommen und papierchromatographisch untersucht. Als Laufmittel dienten:

1.) 1,5 n Ammoniak-nButanol 1:1

2.) Eisessig-Wasser 1:10

Papierchromatographisch konnte kein Unterschied zwischen der ursprünglichen Substanz (VT_1) sowie dem Verseifungsprodukt (V) festgestellt werden:

1.) RF VT_1 0,78 ; V 0,78

2.) RF VT_1 0,88 ; V 0,89

IV. Die Flavonoide des Holzes von

Vitex agnus castus L.

1) Papierchromatographische Trennung und Anreicherung:

Das grobgepulverte von der Rinde befreite Holz (500g) wurde zweimal eine halbe Stunde mit der fünf-fachen Menge 80proz. Methanol am Rückfluß gekocht und heiß filtriert. Die Filtrate wurden vereinigt, im Vakuum auf 300 ml eingengt und zehnmal mit je 50 ml Essigester ausgeschüttelt. Dadurch ließen sich ein großer Teil des Agnusids und einige andere Verunreinigungen entfernen. Die wäßrige Phase wurde mit Ammoniumsulfat gesättigt und die Flavonoide sechsmal mit je 40 ml Butanol ausgeschüttelt. Die Butanolphase wurde mit wenig Wasser gewaschen und zur Trockne eingengt. Aus dem schwarzen Rückstand ließen sich mit kleinen Mengen kaltem Wasser die Flavonoide mit wenigen Verunreinigungen herauslösen. Die weitere Reinigung und Trennung erfolgte papierchromatographisch:

Dazu wurde die konzentrierte wäßrige Lösung als Streifen auf die Startlinien aufgetragen. Die Startlinien befanden sich 7 cm vom oberen Rand auf der Schmalseite der 15x50 cm großen Papiere. Die Entwicklung erfolgte absteigend. Die im UV-Licht dunkel erscheinenden Zonen der Flavonoide wurden ausgeschnitten und die Streifen in einer mit dem Solvens gesättigten Kammer solange mit 50proz. Methanol eluiert, bis die abtropfende Lösung farblos war.

Diese Operation wurde viermal nacheinander mit folgenden Laufmitteln durchgeführt:

10proz. Essigsäure, BEW (4:1:5) 50proz.Essigsäure,
30proz. Essigsäure.

2) Säurehydrolyse:

Prüfung auf Zucker:

Je 1 ml der wäßrigen Flavonlösungen von F_a und F_b wurden mit der gleichen Menge 3n Schwefelsäure versetzt und drei Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluß gekocht. Nach Neutralisation mit Bariumhydroxyd wurde abzentrifugiert, die überstehende klare Flüssigkeit auf ein kleines Volumen eingeeengt und papierchromatographisch geprüft. Es ließen sich keine Zucker nachweisen.

Laufmittel: Pyridin-Essigester-Wasser (1:2:2);

Sprühreagenz Anilin-Phtalsäure(72).

Prüfung auf Flavonoide:

Je 1 ml der wäßrigen Flavonlösungen wurden mit der gleichen Menge 3n Salzsäure versetzt und zwei Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluß gekocht. Dann wurde mit Natriumacetat auf pH5 abgepuffert und die Lösung sofort chromatographiert. Es zeigte sich bei beiden Stoffen F_a und F_b , daß die Lösung neben dem Flavonoid eine weitere flavonoide Substanz ähnlicher Polarität enthielt. Eine Substanz, deren RF-Wert auf ein Aglukon schließen ließe, konnte nicht nachgewiesen werden. Es war also wahrscheinlich keine Hydrolyse, sondern eine "Isomerisierung" eingetreten. Die RF-Werte beider Flavonoide F_a und F_b sowie ihrer Isomerisierungsprodukte S_a und S_b sind in Tab.3(S.33) zusammengefaßt.

Isomerisierung:

Je 0,5 ml der Flavonlösungen wurden wie oben isomerisiert und die Reaktionsprodukte durch präparative Papierchromatographie getrennt. Die Trennung verlief analog der Trennung der Flavonoide bei der Isolierung (s.S.64).

Die Zonen entsprechend den Isomerisierungsprodukten S_a und S_b bei beiden Flavonoiden wurden nach Markierung

im UV-Licht ausgeschnitten und diese Spaltprodukte nach Elution aus dem Papier abermals den Bedingungen einer Hydrolyse unterworfen. Die sofort anschließende papierchromatische Untersuchung zeigte, daß nach Hydrolyse von S_a und S_a ein zweiter Fleck entstanden war, der mit dem Ausgangsflavonoid F_a übereinstimmte.

Ebenso stimmte nach Hydrolyse von S_b der außer S_b aufgetretene Fleck mit dem Flavonoid F_b überein. Die Übereinstimmung konnte in verschiedenen Laufmitteln bestätigt werden. (s.Tab.3 S.33)

3) UV-spektrophotometrische Untersuchungen.

Zur Messung wurde eine geeignete Menge des Eluats - ca. 0,5 ml - zu 5 ml mit der entsprechenden Reagenzlösung aufgefüllt. Die Absorptionsspektren wurden in reinem Methanol und unter Zusatz folgender Reagenzien aufgenommen:

- a) gesättigte methanolische Natriumacetatlösung wasserfrei,
- b) Natriumacetatlösung 0,5%, Borsäure 1% in Methanol
- c) Natriummethylatlösung etwa 0,002 molar in Methanol,
- d) Aluminiumchloridlösung 0,5% in Methanol.

Die Messung erfolgte bei den Reagenzien a) und d) nach 10 Minuten, bei den Reagenzien b) und c) nach 20 Minuten.

V. Die ätherischen Öle bei Vitex agnus castus L.
und Vitex megapotamica (SPRENG.) MOLDENKE.

1) Wasserdampfdestillation der Blätter von
Vitex megapotamica:

200 g der Blätter wurden grob gepulvert und nach Vorschrift des DAB VI einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat - ca. 200 ml - wurde mit 60g Kochsalz versetzt und dreimal mit je 20 ml Pentan ausgeschüttelt. Nach Abdampfen des Pentans verblieb jedoch kein wägbarer Rückstand.

2) Elektive Anfärbung und Auszählung der Drüsenhaare:

Anfärbung der Drüsenhaare mit Sudan(III)lösung:

50 mg Sudan III wurden in 10 ml Äthanol unter leichtem Erwärmen gelöst, 50 ml Glycerin hinzugefügt und die Lösung zum Sieden erhitzt. Die zu untersuchenden Blätter wurden fünf Minuten in dieser Lösung gekocht, in Wasser abgespült und sofort mikroskopiert.

Auszählung der Drüsenhaare:

Bei beiden Arten wurden die "kleeblattartigen" Drüsenhaare ausgezählt. Das Zählen erfolgte mit einem Netzokular. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 zusammengefaßt.

Zahl der Drüsenhaare bei V. megapotamica:

4,3 bezogen auf $1,25 \text{ mm}^2$
entspricht 3,44 bezogen auf 1 mm^2

Zahl der Drüsenhaare bei V. agnus castus:

11 bezogen auf $0,18 \text{ mm}^2$
entspricht 61,1 bezogen auf 1 mm^2

Verhältnis: 3,44 : 61,1 $\approx$ 1 : 18

Lauf. Nr.der Mess.	V.megapotamica		V.agnus castus		
	Haare pro 1,25mm ² Blatt- Obers. Unters.		Haare pro 0,18mm ² Blatt- Obers. Unters.		auf 1,25mm ² umgerechnet Unters.
1	0	2	0	14	99
2	0	4	1	7	50
3	0	7	0	5	35
4	0	6	0	12	85
5	0	5	0	14	99
6	0	6	0	14	99
7	0	7	0	12	85
8	0	4	0	11	78
9	0	4	0	10	71
10	0	1	0	10	71
11	0	4	0	10	71
12	0	5	0	12	85
13	0	3	0	-	-
Durch- schnitts- wert:	0	4,3	0	11	77

Tabelle 12: Auszählung der Drüsenhaare von
V.megapotamica und V.agnus castus

Um das Material statistisch zu erfassen,
wurden an sechs verschiedenen Blättern je zwei
Messungen durchgeführt.

Literaturverzeichnis

- 1) FREY-WYSSLING, A.: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen, Berlin 1935
- 2) MOLISCH, H.: Mikrochemie der Pflanze, 3.Auflage, Jena 1923
- 3) HÄNSEL, R.: Planta Medica 10, 361-84 (1962)
- 4) WINDE E., HÄNSEL, R.: Arch.Pharmaz. 293, 556 (1960)
- 5) HÄNSEL, R. u. RIMPLER, H.: Arch.Pharmaz. 296, 598 (1963)
- 6) SIRAIT, M.: Dissertation Berlin 1961
- 7) BRIQUET, J.: in ENGLER u. PRANTL, "Natürl. Pflanzenfamilien" Bd. IV, 3a (1897) 136 ff bzw. 170 ff
- 8) MOLDENKE, H.N.: Materials toward a monograph of the genus Vitex. Phytologia 5 (4) 142-176
- 9) MOLDENKE, H.N.: Materials Phytologia 5 (4) 161-176
- 10) PIEPER, W.: Engl. Bot. Jahrb. 62 Beibl. 141, 2-89
- 11) MOLDENKE, H.N.: Materials toward a monograph of the genus Vitex Phytologia 5 (9) 446 ff
- 12) MOLDENKE, H.N.: Materials 5 (10) 466 ff
- 13) BREITWIESER, K.: "Pharmakognostische Untersuchungen über Verbenaceen", Habilitationsschrift, Braunschweig 1942
- 14) HAGER: Handb. d. Pharmazeut. Praxis, Erg.-Bd., Berlin-Heidelberg-Göttingen 1949, 168
- 15) HOPPE, H.: Drogenkunde, Hamburg 1958, 953
- 16) FREISE, F.W.: Tropenpflanzer 1936, 388
- 17) BASU, N.K., SINGH, G.B.: Quart. J. Pharmac. Pharmacol. 20, 136 (1947)
- 18) PERKIN, A.G.: J. chem. Soc. (London) 73, 1019 (1898)
- 19) EVANS, W.H., McGOOKIN, A.: J. chem. Soc. (London) 3510 (1957)

- 20) RAO, CH.B. u. VENKATESWARLU, V.: J.sci.ind.Res.
(New Delhi) 21 B,
313 (1962)
- 21) RAO, C.B., VENKATESWARLU, V.: Current Science
25/10, 328 (1956)
- 22) HÖRHAMMER, L., WAGNER, H., NIESCHLAG, H., WILDI, G.:
Arch.Pharmaz. 292, 380 (1959)
- 23) SEIKEL, M.K. u. BUSHNELL, A.J.: J.org.Chemistry 24,
1995 (1959)
- 24) MASCRE, M. u. PARIS, R.: Bull.Sci.pharmacol. 44,
401 (1937) 55
- 25) HÖRHAMMER, L., WAGNER, H., LEEB, W.: Arch.Pharmaz. 293,
264 (1960)
- 26) SEIKEL, M.K. u. GEISSMAN, T.A.: Arch.Biochem.Biophysics
71, 17 (1957)
- 27) KOEPPEN, B.H.: Chem.and Jnd. 1962, 2145
- 28) SEIKEL, M.K., HOLDER, D.J., BIRZGALIS, R.: Arch.Biochem.
Biophysics 85, 272 (1959)
- 29) BELIC, I., BERGANT-DOLAR, J. and MORTON, R.A.:
J.chem.Soc.(London) 2523 (1961)
- 30) GRESHOFF, M.: Medeeelingen uit's lands Plantentuin
25 Batavia's Gravenhage 1898, 158
- 31) BOURQUELOT, E., HERISSY, H.: C.R.Acad.So. 134,
1441, (1902)
- 32) WENDT, M.W., HAEGELE, W., SIMONITSCH, E., SCHMID, H.:
Helv.chim.Acta 43, 1440, (1960)
- 33) FUJISE, S., OBARA, H., UDA, H.: Chem.and Jnd. 78,
289, (1960)
- 34) GRIMSHAW, J., JUNEJA, H.R.: Chem.and Jnd. 78, 656, (1960)
- 35) GHOSE, T.P., KRISHNA, S.: J.Jndian chem.Soc. 13,
(1936) 634
- 36) GILDEMEISTER, E., HOFFMANN, F.: Die ätherischen Öle VI,
Ber. 609 (1961)
- 37) SCHIMMEL & Co. AG April 1908, 125
- 38) C. 1909, I 1477
- 39) C 1910, I 1620

- 60) STEINER, M. u. HOLZEM in PAECH-TRACY: "Moderne Methoden
der Pflanzenanalysen" III, 64
Göttingen-Heidelberg-Berlin 1955
- 61) STAHL, E. : Dünnschicht-Chromatographie
Göttingen-Heidelberg-Berlin 1961
- 62) GMELIN, R. : Arzneimittel-Forsch. 13, 774 (1963)
- 63) FIESER, L.F. and FIESER, M. : Steroide New York 1956,
15 ff
- 64) BELLAMY, L.J. : "Ultrarotspektrum und chemische
Konstitution" Darmstadt 1955, 107
- 65) DE KOCK, W.T., ENSLIN, P.R., NORTON, K.B. :
Tetrahedron Letters 309 (1962)
- 66) LAVIE, D., SHOO, Y., GOTTLIEB, D.R. u. GLOTTER, E. :
Tetrahedron Letters 615 (1961)
- 67) NOLLER, C.R., MELERA, A. u. GUT, M. :
Tetrahedron Letters 15 (1960)
- 68) KARRER, P., SCHMID, H. : Helv.chim.Acta 29, 525 (1946)
- 69) EHLICH, J. : Dissertation Berlin 1961.
- 70) REICHSTEIN, T. : Helv.chim.Acta 15, 1110 (1932)
- 71) HALL, I.M. und MACEK, K. : Handbuch der
Papierchromatographie Jena 1958.
- 72) STEINER, M. u. HOLZEM, H. in PAECH-TRACY :
"Moderne Methoden d. Pflanzenanalysen" III,
65
Göttingen-Heidelberg-Berlin 1955
- 73) Hörhammer, L., WAGNER, H. und DHINGRA, H.S. :
Arch. Pharmaz. 292, 83 (1959)
- 74) BELLAMY, L.J. : "Ultrarotspektrum und chemische
Konstitution" Darmstadt 1955, 75

Lebenslauf.

Am 28. Januar 1933 wurde ich, Klaus Dietrich Schaaf, als Sohn des Stadtoberapothekers Alexander Schaaf und seiner Ehefrau Gertrud geb. Rexilius in Berlin geboren. Im Sommer 1940 wurde ich mit meinen drei jüngeren Geschwistern nach Steinerkirchen in Niederösterreich evakuiert; wir kehrten jedoch nach dem Tode meines Vaters in Rußland 1941 nach Berlin zurück. Infolge der Bombenangriffe wurden wir wieder, dieses Mal nach Franzensbad (Tschechoslowakei) evakuiert. In Eger bestand ich die Aufnahmeprüfung für die Oberschule. Nach der totalen Ausbombung in Berlin 1943 zogen wir nach Köslin in Pommern. Im Februar 1945 flüchteten wir von dort nach Parchim i. Mecklb. und bald darauf weiter auf die Halbinsel Eiderstedt an der Westküste Schleswig-Holsteins. Dort war es mir wegen der schlechten Verkehrsverhältnisse erst im Sommer 1946 wieder möglich, die 30 km entfernte Oberschule in Husum zu besuchen. Im Jahre 1952 kehrten wir nach Berlin zurück. Hier legte ich die Reifeprüfung im Frühjahr 1954 ab. Das erste Jahr meiner Lehrzeit als Apothekerpraktikant leistete ich in der Apotheke des Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin N ab, das zweite Lehrjahr in der Ratsapotheke zu Berlin-Neukölln. Nach dem Vorexamen im März 1956 studierte ich vom Sommersemester 1956 ab Pharmazie an der Freien Universität Berlin sowie ein Semester in Innsbruck. Im Frühjahr 1959 bestand ich das Pharmazeutische Staatsexamen. Seit dem 30. April 1959 bin ich in der Apotheke des Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhauses als Krankenhausapotheker tätig. Ich bin verheiratet und habe drei Kinder.

Druck: Arno Brynda, Berlin 30

